

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
KATEDRA FARMACEUTICKÉ BOTANIKY A EKOLOGIE



DIPLOMOVÁ PRÁCE

**Vliv agrotechnik a biologické ochrany rostlin na produkci sekundárních metabolitů
Papaver somniferum L.**

**Influence of agronomical practices and plant biological protection on production of
secondary metabolites of *Papaver somniferum* L.**

Vedoucí katedry: Prof. RNDr. Luděk Jahodář, CSc.

Vedoucí práce: RNDr. Jitka Vytlačilová, Ph.D.

Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

V Hradci Králové, září 2013

podpis

Za odborné vedení a příjemnou spolupráci při řešení této diplomové práce děkuji své školitelce paní RNDr. Jitce Vytlačilové, Ph.D. Dále děkuji panu Ing. Miroslavu Ločárkovi za provedení HPLC analýzy. Děkuji také všem ostatním, kteří přispěli ke vzniku této práce a kteří nebyli jmenováni.

Tato diplomová práce vznikla za grantové podpory SVV-267-002.

Obsah

1	ÚVOD	6
2	CÍL PRÁCE	8
3	TEORETICKÁ ČÁST	9
3.1	Rod <i>Papaver</i> L.....	9
3.2	<i>Papaver somniferum</i> L.	10
3.2.1	Původ a význam máku setého	10
3.2.2	Pěstování máku setého	12
3.3	Biologie máku setého	17
3.3.1	Botanické zařazení.....	17
3.3.2	Popis rostliny	17
3.3.3	Růst a vývoj.....	18
3.4	Sekundární metabolity	21
3.4.1	Farmakologický význam alkaloidů	22
3.4.2	Biosyntéza alkaloidů	25
3.5	Nároky <i>Papaver somniferum</i> L. na prostředí.....	29
3.6	Pěstitelská rizika	31
3.6.1	Plevele	32
3.6.2	Nemoci máku setého.....	32
3.6.3	Škůdci máku setého.....	37
3.7	Faktory ovlivňující biosyntézu alkaloidů v rostlinách <i>Papaver somniferum</i> L.	42
3.8	Odrůdy <i>Papaver somniferum</i> L.	43
3.9	Agrotechnická opatření	46
3.10	Ekologický mák	50
3.10.1	Polyversum	52
4	EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST	54
4.1	Pěstitelská část	54
4.1.1	Rostlinný materiál.....	54
4.1.2	Charakteristika pokusného pozemku	54
4.1.3	Meteorologická data	55
4.1.4	Agrotechnické postupy.....	56
4.2	Fytochemická analýza	58

4.2.1 Izolace alkaloidů	58
4.2.2 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie	60
4.2.3 Tenkovrstvá chromatografie	62
5 VÝSLEDKY	63
5.1 Napadení rostlin helmintosporiózou a plísní makovou	63
5.2 Fytochemická analýza	68
5.2.1 HPLC analýza	68
5.2.2 Kontrolní TLC	77
6 DISKUSE	78
7 ZÁVĚR	85
8 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	86
ABSTRAKT	96
ABSTRACT	97

1 ÚVOD

Mák setý (*Papaver somniferum* L.) znali lidé na našem území již v pravěku (Motýl, 2007). Tato velmi stará kulturní rostlina byla historicky pěstována především pro účely potravinářské. Využití v lidovém léčitelství zastávalo pouze okrajovou funkci. Přesto patří opium získané z makovic máku setého mezi nejstarší rostlinné drogy (Prokeš et al., 2005; [http://www.agrocr.cz/co-je-to-cesky-modry-mak .php](http://www.agrocr.cz/co-je-to-cesky-modry-mak.php)).

Morfin, hlavní obsahová a účinná látka opia, byl dokonce prvním izolovaným alkaloidem v dějinách lidstva (Opletal et al., 2009). Rostliny máku setého produkují celkem asi 40 různých alkaloidů, z nichž pro člověka největší význam mají morfin, kodein, papaverin, thebain a narkotin (Prokeš et al., 2005). Analgetická síla morfinu je nenahraditelná při tišení krutých bolestí. Kodein svým centrálním účinkem efektivně tlumí kašel. Papaverin byl dlouho jediným používaným spasmolytikem muskulotropního typu a jeho význam přetrvává dodnes. V některých zemích je využívána antitusická aktivita narkotinu. A thebain, prekursor morfinu i kodeinu, má naději stát se základem pro výrobu nenávykových analgetik.

Přestože se dnes některé alkaloidy vyrábějí polysynteticky (kodein) nebo dokonce totální syntézou (papaverin), zůstává extrakce makoviny stále důležitým zdrojem alkaloidů máku, především morfinu (Doležal et al., 2009; Jaroš, 1992; Mika, 1988). Obsah morfinu je proto jedním z hlavních ukazatelů kvality makoviny. Farmaceutický průmysl má zájem na tom, aby tento ukazatel dosahoval co nejvyšších hodnot.

Limitujícím faktorem v dosažení tohoto cíle je genetický základ čili odrůda (Stránská et al., 2013). Odrůdy legálního máku olejného můžeme rozdělit na máky průmyslové s obsahem morfinu nad 1 % v suché makovině a na máky potravinářské s nižší produkcí morfinu, potažmo ostatních alkaloidů (Vašák et al., 2010).

V České republice jsou pěstovány téměř výlučně odrůdy potravinářského typu máku ([http://www.agrocr.cz/co-je-to-cesky-modry-mak .php](http://www.agrocr.cz/co-je-to-cesky-modry-mak.php)), jejichž šlechtění je soustředěno ve Výzkumném ústavu olejin v Opavě (OSEVA PRO s.r.o.) a zaměřuje se nejen na jakost semene, škálu a kvantitu produkovaných alkaloidů, ale také na další vlastnosti odrůd, které mohou nepřímo ovlivnit výnos, jako jsou například odolnost

proti chorobám a poléhání rostlin. Totiž syntéza alkaloidů v rostlině je energeticky náročný proces, do kterého zasahuje mnoho faktorů. Kvalita výnosu je významně modifikována konkrétním pěstebním ročníkem a agrotechnická opatření mají jeho vliv eliminovat (Doležalová et al., 2011).

V moderní době, kdy si čím dál více uvědomujeme nutnost péče o životní prostředí, panuje snaha, aby se co nejvíce pěstitelů obrátilo k ekologickému způsobu obhospodařování půdy. Pro většinu z nich je ale pochopitelně na prvním místě otázka zisku.

Proto je důležité se tímto, prozatím vedlejším režimem pěstování, intenzivněji zabývat a důkladněji prozkoumat vliv ekologických agrotechnických postupů na produktivitu, aby se ekologické zemědělství z ekonomického hlediska mohlo stát plnohodnotným k zemědělství konvenčnímu. Nebude-li tomu tak, obchodní zájmy lidí nad péčí o Zemi a její obyvatele pravděpodobně převáží.

2 CÍL PRÁCE

Cílem této diplomové práce bylo v přirozených půdních podmínkách botanické Zahrady léčivých rostlin, při Farmaceutické fakultě v Hradci Králové, ověřit vliv biologické ochrany rostlin na produkci sekundárních metabolitů *Papaver somniferum* L. Pro účely tohoto experimentu byly vybrány odrůdy Lazur, Orbis, Orfeus a OP-P-13. V této práci byly zhodnoceny výsledky fytochemické analýzy makovic odrůd Lazur a Orbis a výsledky analýzy stonků všech odrůd. Hodnocením makovic odrůd Orfeus a OP-P-13 se ve své diplomové práci zabývala Linda Röslerová. Jako biologická ochrana byl použit přirozený půdní mikroorganismus *Pythium oligandrum* z biofungicidu Polyversum a sledovanými sekundárními metabolity se staly morfin, kodein, papaverin, thebain a narkotin.

Během práce v botanické zahradě a v laboratoři jsem spolupracovala s Lindou Röslerovou.

3 TEORETICKÁ ČÁST

3.1 Rod *Papaver* L.

V rámci rodu *Papaver* L., mák, již bylo popsáno přibližně 120 druhů. Tyto druhy můžeme roztrždit podle jejich morfologických znaků, karyologických znaků, areálu jejich rozšíření a také podle složení jejich alkaloidních spekter až do 11 sekcí: *Argemonidium*, *Californicum*, *Carinatae*, *Glauca*, *Horrida*, *Macrantha*, *Meconella*, *Meconidium*, *Papaver*, *Pilosa* a *Rhoeadium* (Dvořáková et al., 2008; Vašák et al., 2010).

K nejznámějším druhům rodu máku patří několik u nás planě rostoucích druhů, plevelů nebo druhů pěstovaných pro dekorativní účely. Ze sekce *Rhoeadium* jsou to např. *Papaver dubium* L., mák pochybný, a *Papaver rhoeas* L., mák vlčí, jehož květ je oficiální, využívaný jako korigens barvy a barvivo. Dále *Papaver orientale* L., mák východní a *Papaver bracteatum* LINDL., mák listenatý, ze sekce *Macrantha* (Jahodář, 2006; Vašák et al., 2010). Mák listenatý je v současné době ověřován v polním pěstování jako potenciální kulturní plodina s předpokládaným využitím ve farmaceutické výrobě. Jeho dominantním alkaloidem je thebain s nenávykovým analgetickým účinkem, vhodný též k přeměně na kodein (Novák, 1985; Vašák et al., 2010).

Zdaleka nejvýznamnějším druhem je však *Papaver somniferum* L., mák setý, potažmo *Papaver setigerum* DC. [syn. *P. somniferum* L. var. *setigerum* (DC.) Corb.], mák setý štětinkatý (Jahodář, 2006). Oba tyto druhy patří podle taxonomického a fytochemického hodnocení do sekce *Papaver*.

Významným charakteristickým znakem celého rodu *Papaver* L. je produkce latexu, který obsahuje alkaloidy specifické pro danou sekci (Novák et al., 1981). Dosud bylo na složení alkaloidních spekter analyzováno kolem 80 druhů rodu, přičemž se podařilo izolovat přibližně 140 alkaloidů. Jde o alkaloidy isochinolinové a biologicky od nich odvozené varianty (Stránská et al., 2013). Alkaloidy thebain a salutaridin byly nalezeny u více druhů rodu máku, což znamená, že fenolická oxidace vedoucí k vytvoření thebainu je u makových rostlin jevem obecnějším. Ale pouze druhy *P. somniferum* L. a *P. setigerum* DC. mají specifickou schopnost demethylace methoxylových skupin vedoucí ke vzniku oripavinu či kodeinu a následně analgeticky

silně účinného morfinu (Novák et al., 1981; Stránská et al., 2013; Ziegler et al., 2005). Právě pro škálu produkovaných alkaloidů je *P. somniferum* L. pěstován za účelem farmaceutického využití a pro nezaměnitelnou chuť semen za účelem využití v potravinářství (Vašák et al., 2010).

3.2 *Papaver somniferum* L.

3.2.1 Původ a význam máku setého

Mák setý je prastarou kulturní rostlinou. Jeho původ však nebyl dodnes zcela objasněn. Planá forma máku setého se v přírodě nevyskytuje. Podle některých autorů (např. Kubát, 1988) vznikl z planě rostoucího máku štětinkatého, *P. setigerum* DC., vyskytujícího se ve středním a západním Středomoří (Hejný et al., 1988). Jiní autoři (např. Schwanitz, 1969) se domnívají, že je mák setý druhem původním, s domovem ve Východní (Nepál, Čína) a Přední Asii (Malá Asie, Zakavkazí, Írán, Turkménské vysočiny). V současné době, mimo větší část Afriky, Střední a Jižní Ameriku, je mák rozšířen téměř celosvětově (Vašák et al., 2010). Lidé, žijící na území dnešního Česka, znali mák už 800 let před Kristem. Dokazuje to objev z roku 2007 z Ostrova na Tachovsku, kde bylo nalezeno zuhelnatělé zrnko máku datované do pozdní doby bronzové (Motýl, 2007).

Pěstuje se jako dekorativní rostlina, pro olejnatá semena a pro obsah alkaloidů, jejichž směs se nazývá opium. **Opium** je jednou z nejstarších známých drog, a to v původním slova smyslu pro suchý přírodní materiál, i v přeneseném smyslu pro materiál s rizikem vzniku závislosti při jeho zneužívání (Prokeš et al., 2005). Český lékopis 2009 uvádí jako surovinu pro přípravu galenických přípravků *Opium crudum*, surové opium, resp. *Opium pulvis normatus*, opium práškované standardizované. Existují dva způsoby, jak opium získat – z nezralých tobolek nebo izolací z makoviny (Jahodář, 2006).

Celá rostlina je bohatě prostoupena cévními svazky a mléčnicemi, které jsou naplněny jedovatou mléčnou šťávou – latexem, který obsahuje řadu látek: bílkoviny, cukry, slizy, vosky, kaučuk, pryskyřice, nedusíkaté mekonin a mekonidin a některé kyseliny – hlavně kyselinu mekonovou. Čerstvě získaný má značné množství vody. Jeho podstatu tvoří zmiňovaná směs alkaloidů. Nej hustěji jsou vodivými pletivy a mléčnicemi protkány plody máku – mnohosemenné tobolky, nazývané makovice

(Korbelář et al., 1973; Prokeš et al., 2005; Vašák et al., 2010). Nezralé makovice se v době, kdy mění barvu ze zelené na žlutou, nařezávají a roní pak šedobílou mléčnou šťávu, která se na vzduchu rychle sráží, hnědne a tuhne (Jaroš, 1992). Zaschlá mléčná šťáva se potom sbírá. U nás se tento sběr neprovádí. Surovinou pro izolaci alkaloidů je maková sláma (celá nadzemní část rostliny kromě semen) či makovina (tobolky s maximálně 15 cm dlouhým stonkem pod tobolkou po výmlatu semen nebo jejich drť) (Korbelář et al., 1973; Vašák et al., 2010).

Dříve se k léčebným účelům používalo samotného opia, bez znalosti jeho obsahových látek a jejich rozdílných vlastností a účinků. Synonymem pro opium jsou starší názvy „laudanum“, „meconium“. Názvem meconium býval též označován morfin, hlavní protibolestivě účinkující složka opia, kterou již v roce 1803 nebo 1804 objevil německý lékárník Sertürner. Jeho přesné chemické složení bylo zjištěno až v roce 1952. Krátce nato byl pak připraven totální syntézou. Dodnes se však získává buď izolací z opia nebo z makoviny. Do konce století bylo alkaloidů objeveno celkem 20. Morfin, pseudomorfin, ale i kodein, papaverin, thebain, narkotin (= noskabin), rhoeadin a další. Dnes je známo opiových alkaloidů přibližně 40, z nichž 5 je zastoupeno v sušině opia v relativně nejvyšším množství: morfin (4 – 10 %), narkotin (4 – 10 %), kodein (0,3 – 3 %), papaverin (1 – 1,3 %), thebain (0,2 – 1 %) (Jaroš, 1992; Prokeš et al., 2005; Vašák et al., 2010). Všechny těchto 5 alkaloidů nachází uplatnění ve farmaceutickém průmyslu.

Stopová množství alkaloidů se nacházejí i v semenech máku. Otázka produkce alkaloidů semeny byla historicky sporná. Semena však neobsahují mléčnice ani cévní svazky, tedy neprodukuje alkaloidy. Přítomnost alkaloidů v semenech se vysvětluje kontaminací semen prachem z tobolek (rezidua makoviny) (Novák et al., 1987; Vašák et al., 2010).

Makové semeno je hojně využíváno v potravinářském průmyslu, jako posyp pečiva, pro přípravu sladkých i slaných pokrmů. Méně často se semena lisují pro získání jasně žlutého, polovysychavého až vysychavého oleje. Olej po lisování za studena slouží jako olej stolní s vynikajícími sensorickými vlastnostmi. Lisováním za tepla vzniká olej s technickým využitím k výrobě fermeží, laků, barev a mýdla. Pokrutiny a šrot se dají využít v průmyslu krmivářském. Obsah minerálních látek a vitaminů je ale nízký a reziduální zbytky alkaloidů ze špatně vyčištěných semen mohou u hospodářských

zvířat způsobit vážné zdravotní poruchy (Paul et al., 2002; Valíček, 2002; Vašák et al., 2010).

Potravinářský mák (semeno) je potravinou s významnou dietetickou hodnotou. Obsahuje 42 – 55 % oleje, jehož složkou jsou dieteticky velmi cenné nenasycené mastné kyseliny (kyselina palmitová, stearová, olejová a linolenová). Mák dále obsahuje směs alfa, beta a gama tokoferolů, tj. látek se silnými antioxidačními účinky ze skupiny vitaminů E, kyselinu pantothenovou, niacin, thyamin a další vitaminy, bílkoviny, vlákninu, mimořádné množství vápníku a další minerální a jiné látky. Jako u pochutiny je u něj kvalita hodnocena především s důrazem na homogenitu barvy, vůni, chuť, vlhkost a cizorodé příměsi (Farmář, 2008; Vašák et al., 2010; http://www.agrocr.cz/co-je-to-cesky-modry-mak_.php).

Pro okrasu se mák setý pěstuje v různých zahradnických kultivarech lišících se vzrůstem, barvou květů a tvarem a velikostí tobolek (Hejný et al., 1988).

3.2.2 Pěstování máku setého

Mák se pěstuje téměř celosvětově v mnoha odrůdách s různou produktivitou, která je u nich geneticky zafixována (Stránská et al., 2013). Můžeme je roztrdit do několika skupin. Zemědělsky nejvýznamnější je členění máku setého na mák opiový a mák semenný čili olejný (Vašák et al., 2010).

Mák opiový čítá sedm poddruhů (ssp.), jejichž rostliny obecně mají bohatě vytvořené, dobře vodivé, měkké lýko s velkými mléčnicemi. Tobolky jsou hladké a po naříznutí v době opiové zralosti, kdy jsou ještě zelené, intenzivně mléčí. Pěstování opiového máku je nelegální a zneužívá se pro produkci opia a z něj získaného morfinu až heroinu.

Mák olejný čítá pouze jeden poddruh. Jeho rostliny mají hrbolaté makovice a méně vyvinuté, tvrdé lýko s malými mléčnicemi. Po naříznutí téměř nemléčí a pro produkci opia se tudíž nehodí. V rámci máku olejného můžeme vyčlenit ještě dvě menší skupiny: mák potravinářský a mák technický. Semena **potravinářského** máku mohou mít barvu bílou, žlutou, okrovou, růžovou, červenou, hnědou, šedostříbrnou, šedomodrou, nejčastěji však modrou. Modrá barva ze všech nejvíce garantuje „makovou chuť a vůni“. Obsah morfinu v suché makovině se rámcově pohybuje od téměř žádného do asi 1 %. Máky **průmyslové**, zatím hlavně šedo- , černo-

a modrosemenné, obsahují spolehlivě více než 1 % morfinu v suché makovině, často 1,5 – 2,5 %, některé odrůdy i více.

S ohledem na genetický základ ozimosti se dají máky členit na **jarní**, které zaujímají ročně 90 – 100 % výměry máku a na máky **ozimé**, s podílem na výměře 0 – 10 %. Ozimý mák je zimovzdorný. V průběhu evoluce kulturních rostlin se morfologicky přizpůsobil tak, že je schopný přezimovat. Lze ho doporučit všude tam, kde jsou problémy s jarním založením porostů. Posunem vegetačních fází se omezí některé negativní vlivy, např. půdní škraloup při vzcházení mladých rostlin aj. Při jarním výsevu dávají ozimé máky pouze čtvrtinové výnosy.

Podle otevírání makovic se pak mák člení na „**hledák**“, který pod korunkou vytváří otvory, z nichž vypadávají semena (např. u máku vlčího). Pro velkovýrobní pěstování se „hledák“ nehodí. Jeho pěstovaným opakem je mák „**slepák**“ (slepý mák) bez otvůrků pod korunkou (Vašák et al., 2010).

Ve světě se mák setý opiový pěstuje na územích označovaných jako „Zlatý trojúhelník“ (Laos, Thajsko, Myanmar) a „Zlatý půlměsíc“ (Afgánistán, Írán, Pákistán), méně pak v Indii, Libanonu a Mexiku (Paul et al., 2002; Valíček et al., 2002; Vašák et al., 2010). Opiovým rájem je Afghánistán, z něhož pochází 93 % světové produkce opia (Hospodářské noviny, 2008). Jde ale o mák nelegální. Jeho celosvětová výměra se v roce 2007 odhaduje na 236 tis. ha (193 tis. ha náleží Afghánistánu). Ve srovnání s ním se ve stejném roce odhaduje výměra máku olejného (legálního) na 104 tis. ha (Hospodářské noviny, 2008; Vašák et al., 2010). V roce 2011 se pak podle informací z INCB (International Narcotic Control Board) mák pěstuje na celosvětové výměře 100 – 130 tis. ha. Skutečná výměra, která zahrnuje i nelegální produkci dosahuje plochy až 300 tis. ha.

Mák olejný je typický hlavně pro evropské země. Těžiště jeho produkce se nachází v Evropské unii, kde prvenství drží Česká republika. Ta patří k nejvýznamnějším pěstitelům máku nejen v evropském, ale i světovém měřítku. Nejvyšší pěstební plocha v ČR byla dosažena v marketingovém roce 2008/2009. Od tohoto roku plocha poklesla. Mimo EU jsou významnými pěstiteli Turecko a Ukrajina (Doležalová et al., 2011; Vašák et al., 2010). Jedná se především o máky potravinářské. Technické máky specializované pro farmaceutické zpracování jsou pěstovány např. v Maďarsku, Francii, Španělsku,

Austrálii, Velké Británii nebo Indii ([http://www.agrocr.cz/co-je-to-cesky-modry-mak .php](http://www.agrocr.cz/co-je-to-cesky-modry-mak.php)).

Ve větší části Asie (mimo jižní a jihovýchodní části) a ve většině zemí Evropské unie legislativní předpisy regulují či přímo zakazují pěstování máku kvůli obavě ze zneužití máku při výrobě drog (Hezký, 2006; Vašák et al., 2010). Na Ukrajině je pěstování nízkomorfinového máku (s obsahem morfinu nižším než 0,2 %) vázáno na licenci a maková pole jsou od května až do sklizně dokonce hlídána policií (Motýl, 2007; Vašák et al., 2010). V Polsku, obdobně i v Německu a na Slovensku, je z důvodu bezpečnosti povoleno pěstovat pouze nízkomorfinový mák, vyjímaje produkci máku pro potřeby farmaceutického průmyslu a pro množení osiva (Artyzsak et al., 2005; Vlk et al., 2010).

V Českých zemích má pěstování máku setého více než tisíciletou tradici. Historicky byl mák setý pěstován a využíván primárně jako olejnina, potravinu. Okrajově se uplatnily v lidovém léčitelství výluhy a tinktury z tobolek jako analgetikum a hypnotikum. V historické literatuře nebyly nalezeny žádné záznamy o systematickém zneužívání této kulturní rostliny na území České republiky. Až dosud mák setý nemá na české drogové scéně žádné významné postavení. Přesto zde existují určitá legislativní omezení. Při pěstování máku v ČR je nutné dodržovat ustanovení vyplývající ze zákona č. 167/1998 Sb., o návykových látkách. Součástí zákona je ohlašovací povinnost osob pěstujících mák na ploše větší než 100 m² a ohlašovací povinnost při vývozu a dovozu makoviny.

V České republice se téměř výlučně pěstují odrůdy potravinářského typu máku. Postupným šlechtěním tohoto máku vznikly odrůdy s rozdílným obsahem morfinu v suchých tobolkách. Dělí se do tří skupin – na nízkomorfinové s obsahem morfinu do 0,2 % , středněmorfinové s obsahem morfinu 0,2 – 0,6 % a vysokomorfinové s obsahem morfinu nad 0,6 % (Hezký, 2006; [http://www.agrocr.cz/co-je-to-cesky-modry-mak .php](http://www.agrocr.cz/co-je-to-cesky-modry-mak.php)).

V současné době jsou česká pole osévána především odrůdami slovenského původu, mezi kterými dominují Major, Maraton a Opal. Souvisí to s tradicí šlechtění máku v Malém Šariši, okres Prešov (Vašák et al., 2010; Vrbovský, 2009). Jejich mimořádnou výhodou je, že jsou dosti odolné vůči poškození herbicidy (Poláková, 2007). Všechny pěstované odrůdy jsou zapsané ve Státní odrůdové knize České

republiky registrujícím orgánem ÚKZÚZ (Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský) – odrůdy Gerlach, Lazur, Opal, Orbis, Orel, Racek, Redy, Sokol, Zeno Plus, a/nebo náleží do Společného katalogu EU (Společný katalog odrůd druhů zemědělských rostlin) – odrůdy Bergam, Buddha, Maraton, Malsar, Major, Orfeus, Zeno 2002 (Zdroje dat: ÚKZÚZ, 2012; ÚKZÚZ – Databáze odrůd; Vašák et al., 2010). Současný stav odrůdové skladby se odráží v uznaných množitelských plochách (tabulka 1).

Tab. 1: Uznané množitelské plochy máku setého v roce 2012

Procento z celkové plochy	Odrůda	Registrace	Barva semene	Obsah morfinu
54 %	Major	SK	modrá	středně vysoký
19 %	Bergam	SK	modrá	střední až mírně vyšší
11 %	Maraton	SK	modrá	středně vysoký
7 %	Opal	CZ	modrá	středně vysoký
4 %	CM 4	CZ	–	–
3 %	Gerlach	CZ	modrá	nízký až středně vysoký
2 %	Racek	CZ	bílá	nízký až středně vysoký

(Zdroje dat: ÚKZÚZ – Databáze odrůd; Vašák et al., 2010; Zehnálek et al., 2013)

Ochrana této plodiny před drogovým zneužitím je v ČR velmi zjednodušena, protože suchá makovina u našich hlavních odrůd je jen velmi málo obsažná. To ale komplikuje práci jejím odběratelům i části pěstitelů, kteří makovinu prodávají (Pšenička et al., 2009). Monopolním zpracovatelem makoviny na léčivé látky ve střední Evropě a zároveň výhradním odběratelem české makoviny je slovenský farmaceutický průmysl, Zentiva a.s., Hlohovec (Poláková, 2007; Vašák et al., 2010).

Požadavky na kvalitu makoviny se od roku 2004 stále zvyšují. V roce 2004 byl do normovaných jakostních ukazatelů pro výkup a hodnocení makoviny zařazen ukazatel „obsah morfinu“ – min. 0,15 %. V následujícím roce byl tento požadavek zvýšen na min. 0,25 % a v roce 2009 na min. 0,30 %. I když cena výrazně roste až od 0,50 %, přičemž je nižší u makoviny z odrůd běžného potravinářského máku (asi 95 % dodávky makoviny) a cenově je preferována makovina z vysokomorfinových odrůd máku (Buddha, Lazur, Postomi), které se v ČR pěstují pouze do přibližně 5 % ploch.

V současné době sklízí mák v ČR zhruba 70 % pěstitelů formou tzv. komplexní sklizně (sklizeň porostu máku setého s makovinou). Důvodem jsou nesporné výhody

této sklizně – minimální ztráty při sklizni a manipulaci a samozřejmě i dodatečný finanční přínos při prodeji makoviny.

Při nynější situaci v obchodní politice farmaceutického průmyslu se mnohdy i velmi kvalitní makovinu nepodaří zobchodovat. Proto jsou nuceni mnozí pěstitelé likvidovat makovinu jiným bezpečným způsobem pod dohledem Celní správy ČR. Nejčastěji jde o zaorávku, případně pálení v kotlích. Možné je i briketování makoviny, která je velmi výhřevná. Celkový nákup makoviny Zentivou Hlohovec představují z 95 % dodávky z České republiky, zbytek je ze Slovenska (Vašák et al., 2010).

Mák se tak stává významnou exportní komoditou ze skupiny léčivých, aromatických a kořeninových rostlin. V roce 2007 představovala makovina dokonce 100 % vývozu léčivých rostlin z ČR (Husáková, 2009). Velmi významné postavení ale mák zaujímá i v oblasti olejnin, kde je po řepce olejné druhou nejpěstovanější plodinou v České republice. Produkce makového semene je v dlouhodobém průměru z 87,4 % exportována (MZe, 2009).

Nicméně, v posledních letech všeobecně panují obavy z budoucnosti českého máku coby potraviny. Důvodem je snižující se poptávka po makovém semeni ze zahraničí a v důsledku toho razantní snižování ceny máku. Vznikají tak přebytky produkce na skladech a od roku 2009 dochází ke snižování pěstitelské plochy českých zemědělců. Příčinou snižující se poptávky po českém máku je jeho nižší kvalita zhruba v posledních třech letech. Český mák byl vždy vyhlášený svou kvalitou a vynikajícími sensorickými vlastnostmi (Roubal, 2012). Problémem je dovoz technického makového semene. Takové semeno je zpravidla kontaminováno řádově vyšším obsahem morfinu a jeho derivátů a chuťově se nevyrovná potravinářskému máku. Jako odpad je vždy levnější. Pro svou extrémně nízkou cenu jsou technické máky dováženy některými obchodníky do ČR, kde jsou míchány s potravinářskými máky z domácí produkce a jako zboží „české provenience“ s vysokým ziskem, za relativně nižší pořizovací cenu, exportovány na tradiční vývozní trhy ČR. Jen za leden a únor 2012 bylo do ČR dovezeno 1400 t technických máků z Maďarska, za deklarovanou cenu 17 Kč/kg, z Austrálie za 12,88 Kč/kg a to včetně nákladů na dopravu a ze Slovenska za 3,60 Kč/kg. Důsledkem je postupná ztráta prestiže českého máku na zahraničních trzích a neschopnost českých producentů konkurovat cenám, které jsou pod úrovní nákladů na pěstování potravinářských odrůd v ČR (<http://www.agrocr.cz/co-je-to-cesky-modry-mak .php>).

3.3 Biologie máku setého

3.3.1 Botanické zařazení

Oddělení: Magnoliophyta

Třída: Magnoliopsida

Podtřída: *Ranunculidae*

Řád: Papaverales

Čeleď: Papaveraceae (mákovité)

Druh: *Papaver somniferum* L. (mák setý) (Jahodář, 2006)

Za latinským binomickým názvem rostliny je často uvedeno jméno nebo zkratka jména botanika, který první popsal druh v souladu s pravidly (Kubát et al., 2003). *Papaver somniferum* L. popsal v roce 1753 botanik Linné. Popsal zároveň diakritické znaky, které jej odlišují od ostatních druhů rodu máku (Tétényi, 1997). *Papaver setigerum* DC. byl popsán v roce 1815 De Candollem. Ten se rovněž jako první domníval, že se může jednat o planou formu kulturního máku (Bechyně et al., 1987).

3.3.2 Popis rostliny

Květní vzorec máku setého: $\text{♀} \oplus K_2 C_2 + 2 A^\infty \underline{G(\infty)}$ (Jahodář, 2006)

Mák setý je jednoletá bylina, jejíž kořenový systém je tvořen hlubokým kulovým kořenem s několika silnými postranními kořeny a velkým množstvím vláscitých kořínků. Hlavní kořen dorůstá hloubky 75 cm i více. Lodyha je vzpřímená, válcovitá, lysá nebo řídce štětinatě chlupatá, modře ožíněná a u běžných odrůd 100 – 180 cm vysoká. Počet větví je odrůdovým znakem. Jednoduché, podlouhlé, mírně zvlněné a zubaté listy jsou pokryty jemnou voskovou vrstvičkou, která je významná při ošetření porostů herbicidy i listovými hnojivy. Květy jsou před rozkvetem převislé, potom přímé. Mají dvoulístý, opadavý kalich a čtyři lístky okvětní, zbarvené bíle, růžově, světle nebo tmavě červeně až fialově. Většinou se na jejich bázi objevuje velká tmavší skvrna (obr. 1).

Obr. 1: Jedna z možných barevných variant *Papaver somniferum* L.



(© Kopáč, 2009)

Plod je mnohosemenná tobolka, makovice, jejíž velikost a tvar záleží především na odrůdě. Může být téměř zcela uzavřená (mák „slepák“), nebo má pod paprsky blizny otvůrky, kterými se může semeno vysypat na zem (mák „hledák“). Semena máku jsou ledvinovitá a různě barevná, nejčastěji modročerná. Jejich množství a velikost závisí na velikosti a tvaru tobolky a na počtu lamel v tobolkách, na něž semena přisedají. Počet lamel se shoduje s počtem paprsků blizny. To je snadno vidět na „korunce“ makovice, což je vlastně blizna. Počet lamel v makovici se pohybuje od osmi do čtrnácti. V tobolce může být až 12 tis. semen. Obvyklý počet je však kolem 4 – 6 tis. a hmotnost semen 2 – 3 g na makovici. Kvete od června do srpna (Farmář, 2008; Hejný et al., 1988; Korbelař et al., 1973; Vašák et al., 2010;).

3.3.3 Růst a vývoj

Růst rostlin máku setého

Mák setý jarní má vegetační dobu 120 – 135 dnů. Růst lze rozdělit do tří hlavních období – období pozvolného růstu, období největší asimilace a období odumírání a zrání rostliny (Bechyně et al., 2001).

Do **období pozvolného růstu** náleží růstové fáze klíčení semen, vzcházení rostlin a vytváření prvních pravých listů. Růst vzešlých rostlinek je velmi pozvolný. V tomto období jsou rostliny snadno ohrožovány půdním škraloupem a snadno je potlačují a přerůstají plevy.

Od počátku tvorby stonku začíná rychle přibývat organická hmota, nastává **období největší asimilace** rostlin – hlavní období růstu rostlin, a to až do fáze vývoje zelených tobolek. Později už začínají postupně odumírat listy a asimilační plocha se zmenšuje. Do období největší asimilace spadá i období kvetení máku, při němž dochází před úplným rozkvětem k pohybům poupěte.

Během kvetení máku se zvětšuje semeník a po odkvětu, v **období odumírání a zrání** rostliny, rychle narůstá. Začínají se formovat tobolky. Jejich vývoj můžeme rozdělit do tří hlavních etap. V první etapě makovice doroste do konečné velikosti a tvaru. Během druhé etapy se vyvíjejí semena a v etapě třetí makovice postupně vysychají a dozrávají. Z počátku bezbarvá semena se zabarvují do odstínu podle odrůdy. S postupným vysycháním mění tobolky svou barvu a částečně i tvar. Mladé tobolky jsou zelené a dužnaté. Později začínají žloutnout, přecházejí do bledě žlutohnědé, hnědé. U některých odrůd mohou být až fialově hnědé. Stěny tobolek tvrdnou, dřevnatí. Hmotnost sušiny je po dozrání asi o 15 % menší než v období maximálního růstu (Vašák et al., 2010).

Vývojové fáze rostlin máku setého

Znalost růstové fáze porostu je nezbytná pro určení správné doby aplikace hnojiv, pesticidů, kultivace a sklizně porostu. Nejjednodušší je klasifikace růstu a vývoje porostu podle příslušné makrofenologické stupnice plodiny. Za počátek růstové fáze přitom pokládáme stav, kdy 10 % rostlin v porostu dané fáze dosáhlo. Růstová fáze končí, když ji ukončilo 90 % rostlin. Přesnější metodou sledování vývoje rostlin jsou rozborů mikrofenologické, založené na posouzení organogeneze vzrostných vrcholů. Vyžadují však binokulárních lup a jsou pracovně značně náročnější (http://www.agrokrom.cz/texty/metodiky/radce_hospodare/radce_agrobiologicka_kontrola_v_rostlinne_vyrobe.pdf).

Přesné stanovení vývojových fází rostlin *Papaver somniferum* L. lze provést na základě mikrofenologické stupnice dle Bechyněho a makrofenologické stupnice dle Nováka – uvedena v tabulce 2 (Vašák et al., 2010). Nováková stupnice je vlastně doplněná BBCH stupnice, což je mezinárodní obecná makrofenologická stupnice plodin, která vychází z 9 hlavních fází shodných pro všechny plodiny. Zkratka BBCH je odvozena od názvů institucí **B**iologische **B**undesanstalt für **L**and – und **F**orstwirtschaft

(BBA), Bundessortenamt (BSA) a Chemical industry. Jednotlivé fáze růstu jsou označeny dvoumístným kódem a slovním popisem důležitých znaků. Podle této stupnice fáze nastává tehdy, když ji dosáhne 50 % rostlin v porostu (http://etext.czu.cz/php/skripta/kapitola.php?titul_key=76&idkapitola=24).

Tab. 2: Nováková stupnice vývojových fází *Papaver somniferum* L.

Kód	Vývojová fáze
I. fáze	Klíčení
01	suché semeno
02	nabobtnalé semeno
03	prasknutí osemení
06	vyrašení zárodečného kořínku ze semene
II. fáze	Vzcházení
12	začátek vzcházení, objevení se hypokotylu se složenými dělohami na povrchu půdy
14	dělohy vidlicovitě rozevřeny
III. fáze	Vytváření pravých listů
22	fáze 1. a 2. pravého listu
24	fáze 3. a 4. pravého listu
27	fáze 7. pravého listu
IV. fáze	Fáze růžice
35	listová růžice
V. fáze	Stonkování a butonizace
41	objevení mladého poupěte na krátkém stonku mezi listy přízemní růžice
43	stonek s poupětem je kratší než listy přízemní růžice
45	fáze mladého poupěte – převislé poupě na stonku nepřevyšuje horní lodyžní listy
47	stonek s převislým poupětem převyšuje všechny lodyžní listy
49	plná butonizace, květní stopka přímá, poupě vzpřímené
VI. fáze	Kvetení
52	začátek kvetení, 10 % rostlin kvete
54	plný květ, kvete většina rostlin
56	konec květu, 90 % rostlin odkvetlých
VII. fáze	Vývoj tobolek a zrání – zelená zralost
62	fáze mladé tobolek, dosažení konečného tvaru a velikosti u 10 % tobolek
64	zelená zralost, konečná tvar a velikost u většiny tobolek
72	začátek zrání (žloutnutí tobolek)
VIII. fáze	Žlutá zralost
74	žlutá zralost, vysychání a zrání tobolek
76	dozrávání tobolek a semen
IX. fáze	Plná zralost
81	plná zralost, semena v tobolekách chrastí
X. fáze	Posklizňové dozrávání a dormance semen
91	dormance semen
93	ztráta dormance semen

(Vašák et al., 2010 – přepracováno)

3.4 Sekundární metabolity

Rostliny produkují širokou škálu sekundárních metabolitů, které po chemické stránce můžeme rozdělit do pěti základních skupin: fenyylpropany, acetogeniny, terpeny, steroidy a alkaloidy (Bechyně et al., 1987).

Pro rod *Papaver* L. je charakteristická právě tvorba alkaloidů, jedné z hlavních skupin dusíkatých sekundárních metabolitů rostlin. Jejich význam pro rostlinu není jednoznačný a předpokládá se, jako u všech sekundárních metabolitů, že vznikly v důsledku obranného mechanismu rostlin. Prvořadým smyslem alkaloidů je zřejmě ochrana vlastní rostliny před nejrůznějšími živočichy, ať již býložravci či hmyzem. Jako dusíkaté metabolity mohou být též odpadními látkami rostlinného původu. Podle této úvahy by ale nedostatek dusíku v průběhu růstu měl vést zpět k jejich konverzi. Ovšem biosyntéza alkaloidů je pro rostlinu proces energeticky náročný a vyžaduje řadu specifických enzymů, a tak je tento mechanismus stále neobjasněný (Staněk, 1957; Vašák et al., 2010).

Alkaloidy

Alkaloidy obsahuje až 20 % druhů vyšších rostlin. Prozatím bylo objeveno více než 20 tis. rostlinných alkaloidů (Facchini, 2001; Mascavage et al., 2011). Jejich bohatstvím a rozmanitostí je známá čeleď *Papaveraceae*. Tato čeleď zahrnuje 26 rodů (Hejný et al., 1988). Jen u rodu *Papaver* L. bylo popsáno kolem 140 alkaloidů, z nichž asi 40 je produktem sekundárního metabolismu rostlin *Papaver somniferum* L. (Mika, 1988; Stránská et al., 2013).

Alkaloidy jsou převážně bazické organické sloučeniny. Ty právě jsou odvozené od aminokyselin a ve svém skeletu obsahují jeden nebo několik atomů dusíku amidového typu zabudovaných do heterocyklu. Běžné struktury alkaloidů obsahují cykly piridinové, pyrrolové, indolové, pyrrolidinové, isochinolinové a piperidinové (Bennett et al., 1994).

Alkaloidy nalezené u rostlin *Papaver somniferum* L. náleží do skupiny isochinolinových alkaloidů (Stránská et al., 2013), což je velmi početná skupina látek. Její členění do podskupin se v literatuře často liší, proto zde uvádím jen vybrané alkaloidy máku a podskupiny, do kterých se řadí např. podle Nováka a Preiningera, 1981. Jsou to alkaloidy morfinanového typu (např. morfin, pseudomorfin, kodein, 10-

hydroxykodein, neopin, thebain, oripavin), promorfinanové alkaloidy (salutaridin), benzyloisochinolinové alkaloidy (papaverin, papaveraldin, palaudin, laudanin, laudanidin, laudanisin, kodamin), benzofenantridinové alkaloidy (sanguinarin), ftalidisochinolinové alkaloidy (narkotin, narkotolin, gnoskopin), tetrahydroisichinolinové alkaloidy (hydrokotanin), protopinové alkaloidy (protopin, kryptopin), protoberberinové alkaloidy (skoulerin, somniferin), aporfinové alkaloidy (korytuberin, magnoflorin, isoboldin, glaucin, luciferin, braktein, isothebain), berberinové alkaloidy (berberin), narceinové (narcein), rhoeadinové a papaverrubínové (rhoeadin, papaverrubiny A, B, C, D a F, glaudin) a další.

3.4.1 Farmakologický význam alkaloidů

Z řady v máku identifikovaných alkaloidů je jen pár společensky významných. Jsou to morfin, kodein, thebain, papaverin a narkotin. Zároveň jejich obsah, ať již v opiu či v makovině, je oproti ostatním alkaloidům poměrně vysoký. Minoritní alkaloidy prozatím nenašly praktické využití, ačkoli mohou být farmakologicky dosti zajímavé.

V očním lékařství byly ověřovány některé alkaloidy skupiny protoberberinové (Dvořáková et al., 2008). Zájem ovšem vzbuzuje hlavně vliv alkaloidů isochinolinových na některé enzymové systémy mozku související s procesem neurodegenerativních onemocnění. Jako inhibitory acetylcholinesterasy by tyto alkaloidy mohly být úspěšné v léčbě zejména Alzheimerovy choroby (Sener et al., 2005).

Co se praktického využití týče, dříve se k léčebným účelům používalo samotné **opium** bez znalosti jeho obsahových látek (Jaroš, 1992). Opium má kvalitativně odlišný celkový účinek, než jeho jednotlivé alkaloidy. Vhodnou indikací pro podání opia jsou urputné průjmy a střevní koliky, které vyčerpávají organismus. V těchto případech uvolňuje spazmy, zpomaluje peristaltiku a zmírňuje sekreci. Surové opium slouží podle Českého lékopisu 2009 výhradně jako výchozí surovina pro přípravu galenických přípravků a samostatně se nesmí vydat. Dále má v lékopise článek opium práškové standardizované, opiový extrakt suchý standardizovaný a opiová tinktura standardizovaná. Převládající účinek opia určuje především obsah morfinu. Ostatní alkaloidy působí buď synergicky, anebo antagonisticky (Mika, 1988).

Morfin je vůbec první alkaloid, který byl kdy izolován (Opletal et al., 2009). Účinky morfinu, stejně jako ostatních opioidů, jsou zprostředkovány třemi základními typy opioidních receptorů μ , δ a κ , které jsou lokalizovány na různých místech centrální nervové soustavy i mimo ni (Lüllmann et al., 2004). Hlavní účinek je silně analgetický. Morfin je jako analgetikum – anodynum nenahraditelný při nesnesitelných bolestech, které se nedají utlumit jinými prostředky. Podává se při zhoubných nádorech, těžkých mechanických, termických a chemických úrazech, srdečním infarktu, kolikovitých stavech apod. (Mika, 1988). Dávka 10 – 30 mg morfinu podaného perorálně sníží práh bolesti o 50 – 90 % (Bentley, 1954). U některých jedinců vyvolává euforii. V terapeutických dávkách způsobuje sedaci. Působí tlumivě i na respirační centrum a centrum pro kašel. V některých případech vyvolává nauzeu a zvracení. Zvyšuje tonus hladké svaloviny gastrointestinálního traktu, a to i ve žlučových cestách a zpomaluje peristaltiku. Důsledkem může být zácpa a kolikovitá bolesti. Zvýšení tonu ureterů a sfinkteru močového měchýře může vést k retenci moče. Tonus hladkého svalu děložního může být naopak snížen, což může vést k prodloužení porodu nejasným mechanismem. Míóza je projevem lehké intoxikace. Při toxických dávkách jsou vystupňovány nauzea a zvracení, zácpa, útlum respirace, narkotický účinek. Při opakovaném užívání (zneužívání) se vyvíjí morfinismus – typický syndrom závislosti, projevující se mimo jiné rozvinutou tolerancí (Hrdina, 2012; Lüllmann et al., 2004; Mika, 1988).

Morfin se aplikuje intravenózně, perorálně či perrektálně. Příklady léčivých přípravků jsou např. MORPHIN BOTIKA 1 %, inj.; ORAMORPH 10/30/60/100 mg, tbl. ret.; VENDAL RETARD 10/30/60/100/200 mg, tbl. obd.; MST CONTINUS 60/100/200/300 mg, sup.; MST CONTINUS SUSPENSION 20/30/60/100/200 mg, granulát pro suspenzi; M-ESLON RS 10/30/60/100 mg, cps. ret. a další (Zdroj: MV AISLP, 2013.3).

Podle modelu morfinu, různými obměnami jeho chemické struktury, se dodnes podařilo nejdříve polosynteticky připravit řadu jeho derivátů, později i totální chemickou syntézou zcela nové látky. Žádnou ze strukturních modifikací se však nepodařilo odstranit jeho hlavní nežádoucí účinky, tj. vznik tolerance a návykovost. Podařilo se je však více či méně potlačit. Těchto látek vzešlých vlastně z morfinu se

dnes v medicíně používá daleko častěji a šířeji než morfinu (Hampl et al., 2007; Jaroš, 1992).

Druhý hlavní alkaloid máku setého, **kodein**, byl poprvé izolován z opia v roce 1832 Robiquetem (Bentley, 1954). Dnes se vyrábí z morfinu hlavně synteticky, ale stále ještě i izolací z opia nebo z makoviny. Afinita kodeinu k μ -, δ - a κ -opioidním receptorům je nízká a jeho účinky na organismus jsou především vyvolány metabolizací na morfin. Jeho hlavní účinek spočívá v tlumení kašle přímým účinkem na centrální nervový systém, na centrum pro vybavení kašlacího reflexu. Antitusické přípravky jsou např. CODEIN SLOVAKOFARMA 15/30 mg, tbl.; PLEUMOLYSIN, gtt.

Protibolestivě je asi 10 × méně účinný než morfin, ale účinek běžných protibolestivých léků (analgetik – antipyretik) zesiluje. I na něj se může vyvinout závislost (kodeinizmus). Běžné přípravky proti bolestem s jeho obsahem jsou např. DYNALGIC, tbl.; KORYLAN, tbl.; PANADOL ULTRA, tbl. Kodein obdobně jako morfin tlumí dech a může navodit zácpu. I v tomto směru jsou však jeho účinky ve srovnání s morfinem slabší (Friderichs et al., 2011; Jaroš, 1992; MV AISLP, 2013.3).

Třetí z řady alkaloidů, **papaverin**, byl z opia poprvé izolován Merckem v roce 1848 (Paul et al., 2002). Z důvodu jeho relativně jednoduché syntézy je dnes většinou připravován synteticky. Papaverin se od ostatních alkaloidů zcela liší. Nemá ani protibolestivé účinky, ani netlumí kašel, ale netlumí také dech a nevyvolává zácpu. Užívá-li se opakovaně nebo dlouhodobě, závislost nevzniká. Papaverin je hlavně indikován při střevních, žlučnickových, ledvinových spazmech a při různých spastických stavech cévních. Z trávicího ústrojí se vstřebává dosti nerovnoměrně, proto se někdy dává přednost podání parenterálnímu a rektálnímu (Doležal et al., 2009; Jaroš, 1992). Na trhu jsou léčivé přípravky PAPAVERIN SPOFA, inj.; CONTRASPAN, gtt.; SPASMOVERALGIN NEO, tbl. (obsahuje i kodein) (MV AISLP, 2013.3).

V roce 1804 byl z opia izolován **narkotin** (Staněk, 1957), alkaloid se slabšími účinky na centrální nervovou soustavu než morfin. Nemá, jak by se dalo z názvu očekávat, narkotické ani analgetické účinky. Selektivně tlumí centrum pro kašel, přitom však nesnižuje sekreci v průduškách. V některých zemích se proto používá jako antitusikum. V malých dávkách působí povzbudivě na dýchací centrum, proto se doporučuje jeho podávání spolu s morfinem, čímž by mohl omezit jeho depresivní vliv

na dýchání. Na střevní peristaltiku má narkotin pouze nepatrný vliv. I při užívání ve vysokých dávkách ji zpomaluje pouze mírně (Mika, 1988; Prokeš et al., 2005).

Thebain byl z opia izolován v roce 1835 (Aggrawal, 1995). Nemá tlumivý vliv na centrální nervový systém. Způsobuje pouze tetanické křeče, a proto se sám o sobě v lékařství nepoužívá. Je to ale prekurzor morfinu, kodeinu a perspektivní surovina pro výrobu nenávykových analgetik. Z toho důvodu je zajímavý pro farmaceutický průmysl (Mika, 1988; Novák, 1985).

Vedle mnoha užitečných lidmi využívaných farmakologických vlastností, mají alkaloidy význam jako ochranný faktor proti řadě býložravých škůdců – hmyzu, měkkýšům, savcům. Navíc byly toxické i pro některé houby a bakterie (Bennett et al., 1994).

Z uvedené pětice farmakologicky nejvýznamnějších alkaloidů jsou morfin, kodein a thebain zařazeny mezi omamné látky. Veškeré zacházení s nimi tedy podléhá ustanovením zákona č. 167/1998 Sb., o návykových látkách (Prokeš et al., 2005).

3.4.2 Biosyntéza alkaloidů

Alkaloidy se syntetizují v rostlinách již 2 – 3 dny po vyklíčení. Postupně se syntetizují v kořeni, hypokotylu, dělohách a pravých listech, nakonec ve stonku a tobolce. Syntetizují se v pletivech metabolicky aktivních jako jsou meristémy, pletiva iniciální, žlázková, poraněné kambium a pravděpodobně i v latexu.

Jednotlivé alkaloidy se tvoří různě během vývinu rostliny a ani syntéza během dne není kontinuální. V průběhu dne dochází k tvorbě alkaloidů i jejich odbourávání. V kořenech dosahují nejvyššího obsahu v období jejich nejintenzivnějšího růstu – ve fázi listové růžice až do fáze začátku stonkování. V listech a lodyhách pak v období intenzivního růstu rostliny do fáze kvetení až 14 dní po odkvětu. V tobolkách je obsah opia nejvyšší v době technické (opiové) zralosti.

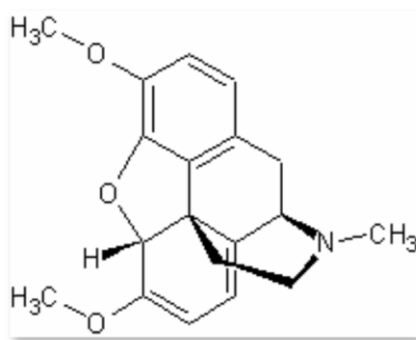
V raném období vývinu rostliny se tvoří spíše vedlejší alkaloidy a morfin se začíná hromadit až po ukončení fáze růžice listů. Od období vývoje poupat do technické zralosti se v nadzemních částech tvoří nejdříve kodein, thebain a narkotin, později morfin, narkotolin a papaverin. Akumulace alkaloidů je nejvyšší v době dvou týdnů od počátku opadu korunních plátků. Největší množství morfinu v makovicích je

po poledni, kdy se morfin syntetizovaný v noci v kořeni přesouvá do nadzemních částí rostliny (Vašák et al., 2010).

Přestože jsou známy alkaloidy, které se vyskytují v různých rostlinách napříč rody, určité rody rostlin běžně obsahují chemicky příbuzné alkaloidy (Staněk, 1957). Biosyntéza alkaloidů máku je druhově specifická. Alkaloidy morfin a kodein syntetizují pouze druhy *Papaver somniferum* L. a *Papaver setigerum* DC. Thebain se vyskytuje i v ostatních druzích rodu (Stránská et al., 2013).

Biosyntetické dráhy benzylochinolinových alkaloidů zahrnují specifické enzymy zastupující mnoho rodin či nadrodin (Hagel et al., 2013). Ukázalo se, že specifickým prekurzorem alkaloidů izolovaných z *Papaver somniferum* L. je aminokyselina tyrosin (Dalton et al., 2003). Kondenzace dvou jejích derivátů, dopaminu a 4-hydroxyfenylacetaldehydu, dá za vznik (*S*)-norkoklaurinu. Ten je centrálním prekurzorem všech benzylochinolinových alkaloidů, tedy i morfinu, kodeinu, thebainu, narkotinu a papaverinu. (*S*)-norkoklaurin je enzymaticky přeměněn na (*S*)-retikulin, následně na (*R*)-retikulin, který za účasti norlaudanosolinu přechází na promorfinanový alkaloid salutaridin a dalším sledem reakcí, opět katalyzovaných specifickými enzymy, na thebain (obr. 2) (Balažová et al., 1998; Facchini, 2001; Hagel et al., 2013).

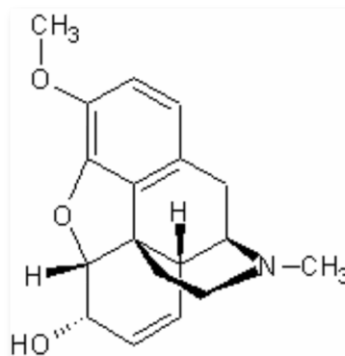
Obr. 2: Vzorec thebainu [(5 α)-6,7,8,14-tetradehydro-4,5-epoxy-3,6-dimethoxy-17-methylmorfinan (Mascavage et al., 2011)]



(vytvořeno v programu ACDLABS 12.0 – ChemSketch)

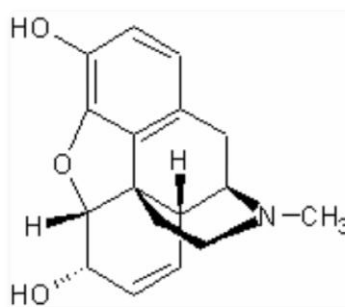
Thebain je demethylován a vzniká neopinon, který se spontánně mění na kodeinon. Z něj působením enzymu vzniká kodein (obr. 3), přímý prekurzor morfinu (obr. 4). Morfin vzniká z kodeinu další demethylací.

Obr. 3: Vzorec kodeinu [(5 α ,6 α)-7,8-didehydro-4,5-epoxy-3-methoxy-17-methylmorfinan-6-ol (Mascavage et al., 2011)]



(vytvořeno v programu ACDLABS 12.0 – ChemSketch)

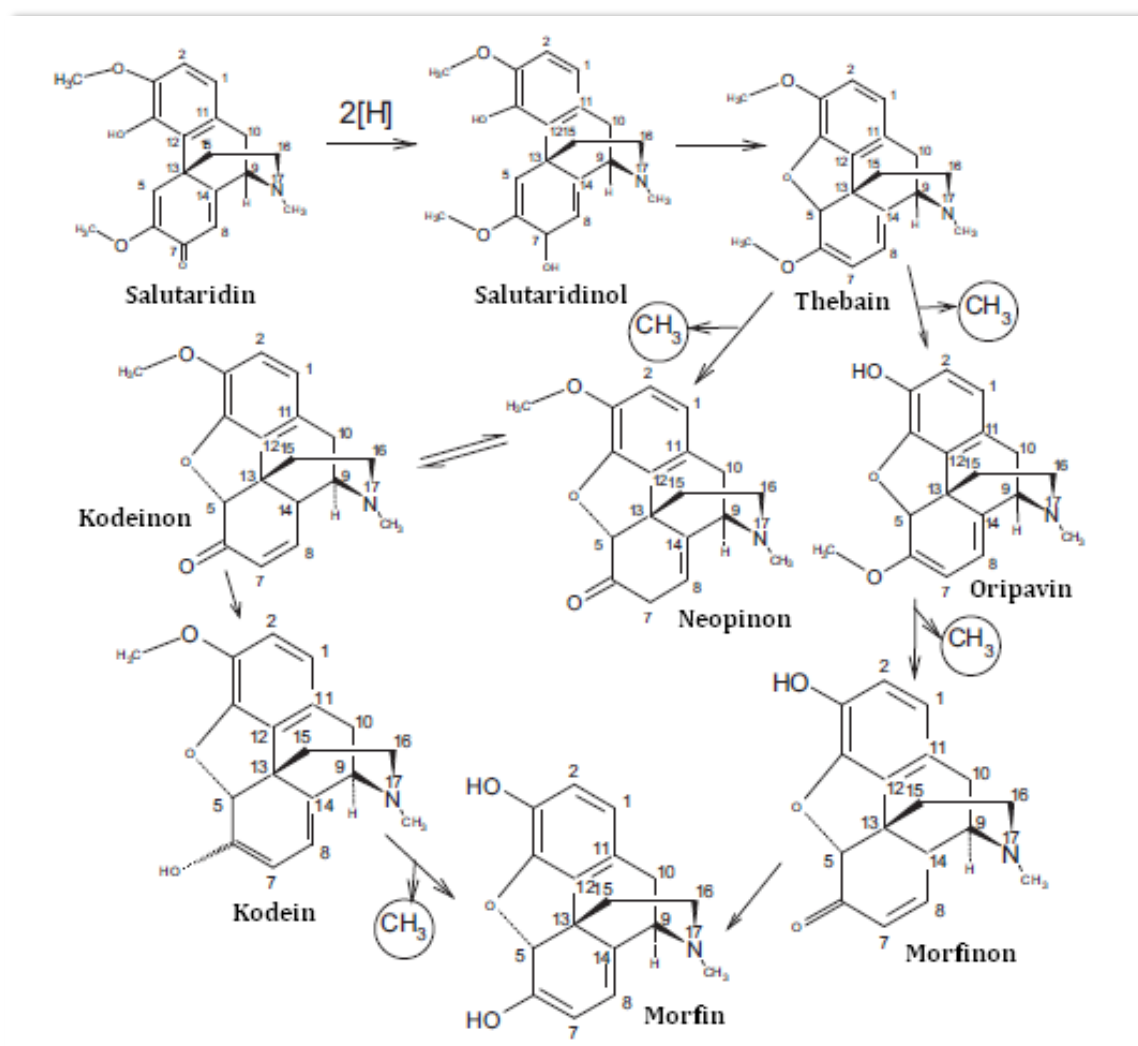
Obr. 4: Vzorec morfinu [(5 α ,6 α)-7,8-didehydro-4,5-epoxy-17-methylmorfinan-3,6-diol (Mascavage et al., 2011)]



(vytvořeno v programu ACDLABS 12.0 – ChemSketch)

Druhá cesta vzniku morfinu z thebainu vede přes oripavin a morfinon opět za účasti specifických enzymů (obr. 5) (Facchini, 2001; Hagel et al., 2013; Stránská et al., 2013).

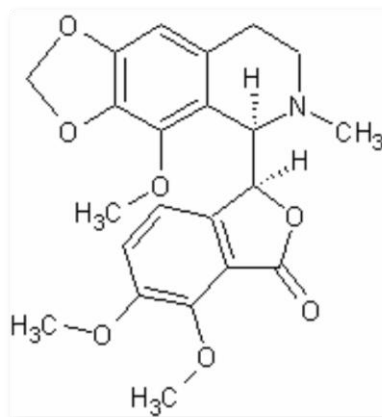
Obr. 5: Biosyntetická dráha vzniku morfinu



(Stránská et al., 2013 – přepracováno)

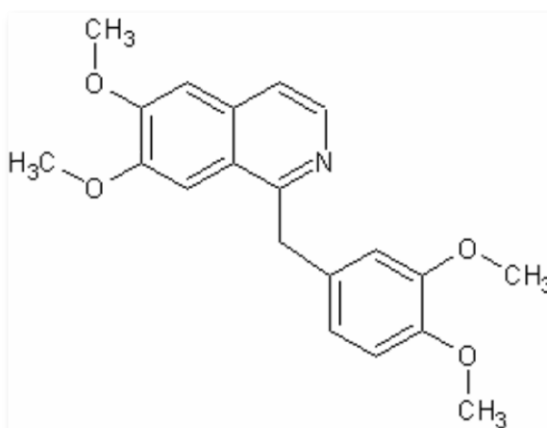
Přestože narkotin (obr. 6) byl mezi prvními izolovanými alkaloidy a papaverin (obr. 7) mezi prvními alkaloidy, jejichž biosyntetické schéma bylo navrženo, jejich biosyntéza není dosud zcela objasněna (Hagel et al., 2013).

Obr. 6: Vzorec narkotinu {(3S)-6,7-dimethoxy-3-[(5R)-4-methoxy-6-methyl-5,6,7,8-tetrahydro[1,3]dioxolo[4,5-g]isochinolin-5-yl]isobenzofuran-1(3H)-on (ČL 2009)}



(vytvořeno v programu ACDLABS 12.0 – ChemSketch)

Obr. 7: Vzorec papaverinu {1-[(3,4-dimethoxy-fenyl)methyl]-6,7-dimethoxyisochinolin (Mascavage et al., 2011)}



(vytvořeno v programu ACDLABS 12.0 – ChemSketch)

Nutno zmínit vztah mezi obsahy jednotlivých alkaloidů. Významná korelace existuje mezi obsahem morfinu a celkovým obsahem alkaloidů. Dále mezi obsahem morfinu a kodeinu. Ostatní alkaloidy vykazují nižší nebo žádnou korelaci navzájem či s celkovým obsahem alkaloidů (Dittbrenner et al., 2009; Prajapati et al., 2002).

3.5 Nároky *Papaver somniferum* L. na prostředí

Mák setý je jednoletá bylina bez ostře vyhraněných nároků na přírodní podmínky. Jeho pěstování je nejvýhodnější na hlinitopísčitých, vápnitých půdách

s neutrální až mírně zásaditou reakcí. Rostlina máku je světlomilná a dlouhodobě, mokro jí nesvědčí (Hejný et al., 1988; Vašák et al., 2010).

Půda

Mák vyžaduje strukturní, kypré a hluboké půdy s dobrým vodním režimem, které jsou dostatečně zásobeny humusem a živinami. Nejvíce mu vyhovují středně těžké hlinité až písčitohlinité nebo hlinitopísčité půdy. Hrudky vzcházení máku nevadí. Naopak škraloup, vznikající po dešti sléváním těžké půdy, či neprovzdušněná suchá půda škodí zcela zásadně. Na pěstitelské oblasti přitom nezáleží. Mák se dá pěstovat ve všech oblastech ČR i SR (Vašák et al., 2010). Ale nejlepší výrobní podmínky jsou v mírně kopcovitých až rovinatých polohách řepařsko-ječného až bramborářsko-pšeničného a ječného výrobního typu (Vašák et al., 2001). Půdy pro pěstování máku nesmějí být zaplevelené a znehodnocené herbicidy s rezidui. Zvláště na počátku vegetace, kdy se rostlinky pomalu vyvíjejí, je zaplevelení velmi nežádoucí (Vašák et al., 2010).

Teplota

Pěstování máku se soustřeďuje do termofytika a mezofytika (do 900 m) (Hejný et al., 1988). Přesto, že je mák celkově plodinou teplomilnou, snáší dobře pozdní mrazíky, což umožňuje jeho pěstování i ve vyšších polohách (Fábry et al., 1990). Nároky na teplo se ale během vegetačního období mění. Zpočátku, do nástupu rychlého růstu, mák snáší nízké teploty. Semeno klíčí již při teplotě 3 – 4 °C. Může se tedy vysévat již v únoru či březnu. Při vzcházení na jaře přetrvávají rostlinky i při – 6 až – 8 °C. Avšak s nástupem rychlého prodlužování stonků a vývojem vzrostečního vrcholu se odolnost proti nízkým teplotám viditelně snižuje (Vašák et al., 2010).

Vodní režim

Pro vyklíčení potřebuje mák málo vody, jen asi 90 % z hmotnosti suchého semene (Vašák et al., 2010). Nedostatek vláhy po vzejití mladých rostlin však vede k zasychání (Fábry et al., 1992). Útlé rostlinky vyžadují na počátku vegetace dostatek vláhy i pro vývoj hlavního kořínku a jeho rozvětvení. Snadněji pak proniká do půdy a zvýší se i příjem živin. Střídání vlhkých a suchých období při počátečním růstu je pro rostliny, hlavně v bezorební přípravě půdy, nebezpečné. Přeschnutí povrchu půdy a vytvoření škraloupu bývá pro rostliny kritické a jejich počet se rapidně snižuje.

Naopak přílišné vlhko a teplo během vzcházení (jde hlavně o pozdní setí) rostlinám škodí už jen tím, že se rychle šíří houbové choroby. Na vláhu je tedy mák obecně velmi náročný, a to zejména v období dlouhivého růstu a kvetení. Později, ve zrání, se jeho nároky postupně snižují. Mák nesnáší vlhké počasí při dozrávání, protože je napadán černěmi a semena žluknou (Vašák et al., 2010).

Světlo

Mák je rostlina světlomilná a dlouhodobě, tedy na světlo náročná. Sluneční paprsky zajišťují silný růst mladých rostlin do fáze listové růžice a v ní zakládání postranních stonků a květů. V období stonkování a kvetení je dostatek světla nezbytný pro tvorbu silné lodyhy, postranních stonků a velkých listů, které zajišťují fotosyntézu a tím i dostatek látek potřebných pro dobrý průběh kvetení a vývin tobolky. Osvětlení je ovlivněno především sponem rostlin, jehož zvětšování působí pozitivně ve všech směrech na růst a vývoj rostlin. Na faktory výnosu a jeho kvality působí jen do určité míry (Fábry et al., 1992). Nedostatek světla v porostu se projevuje celkovým oslabením rostlin. Prodlužuje se jejich výška. Zvyšuje se riziko poléhání. Snižuje se konkurenční schopnost vůči plevelům a snižuje se i výnos semene a alkaloidů v makovině (Vašák et al., 2010).

3.6 Pěstitelská rizika

Výnos semen i makoviny po celou dobu od zasetí až po sklizeň nepříznivě ovlivňují výskyty poruch způsobené nevhodným zpracováním půdy, povětrnostními podmínkami a nedostatkem stopových prvků. Někdy jsou ztráty způsobeny sníženou kvalitou pěstebních opatření a nedostatečnou ochranou proti plevelům, kdy mohou nastat příznivé podmínky pro vývoj nemocí a škůdců máku (Vašák et al., 2010).

Makovina pro výkup přitom musí splňovat několik technických požadavků. Optimálně by měla mít hnědožlutou barvu se světlejším nebo tmavším odstínem. Musí být sklizena v plné zralosti, která je totožná s biologickou zralostí máku. Především ale musí být zdravá, suchá, bez plísní a škůdců (Zukalová et al., 2007).

Mák setý patří mezi plodiny, ve kterých není velký výběr přípravků na ochranu rostlin. Ani specifický vývoj herbicidů do máku neprobíhá a probíhat vzhledem k celosvětově nízké rozloze pěstování asi nebude. Proto jsou využívány přípravky

určené do jiných plodin a teprve dodatečně registrované do máku. Například k potlačování houbových chorob jsou zkoušeny přípravky registrované do řepky olejky. V případě herbicidní ochrany se zkouší herbicidy, které především nehubí máky. Ochrana proti škodlivým činitelům tedy není dosud na takové úrovni, aby byla schopna zajistit vysokou úroveň pěstební technologie (Doubková, 2011; Vašák et al., 2010).

3.6.1 Plevel

Pomalý počáteční růst máku setého znamená velmi nízkou konkurenční schopnost vůči rychle rostoucím plevelným druhům v tomto období (Sikora, 2012). Výsledkem jsou závažné výnosové ztráty již při relativně nízké úrovni zaplevelení.

Mák je zaplevelován všemi skupinami plevelů od ozimých druhů přes efemérní až po pozdní jarní plevel. Výskyt ozimých druhů je do značné míry podmíněn přípravou půdy. Podzimní příprava nebo pouze redukováná jarní příprava přispívají k přežívání ozimých druhů vzešlých v průběhu podzimu a zimy. Naopak intenzivní jarní kultivace favorizuje výskyt pozdních jarních druhů. Problémy s pozdním zaplevelením se v posledních letech zvyšují s tím, jak dochází k posunu úbytku listové plochy máku do stále časnějšího termínu. Na vině jsou narůstající tlak listových chorob (helminosporiíza, plíseň maková) s poměrně složitou ochranou (malý počet registrovaných fungicidů a nesnadné stanovení optimálního termínu ošetření), dále rozvoj škůdců způsobujících prořídnutí porostu (krytonosec kořenový), stále častější stres v podobě sucha a vysokých teplot v kritických růstových fázích a v některých případech také poškození předchozími aplikacemi herbicidů (Vašák et al., 2010).

Mák setý je na rozdíl od jiných plodin citlivý při vzcházení, vykazuje fytotoxické reakce na mnoho přípravků, proto je náročné najít vhodný herbicid (Doubková, 2011). Ale v současných podmínkách pěstovat mák ve velkovýrobě bez použití herbicidů prakticky nelze (Havel et al., 2012).

3.6.2 Nemoci máku setého

Hospodářsky nejvýznamnější jsou houbové choroby. Škodlivost houbových chorob v máku je ovlivněna průběhem povětrnostních podmínek, možným zdrojem infekce a způsobem pěstování. Vzhledem k rostoucí výměře ploch a vyššímu podílu pozemků obhospodařovaných redukováním zpracováním půdy se aplikace fungicidů

do porostů máku v posledních letech staly standardní součástí agrotechniky (Kulhánek, 2011). Zejména infekční tlak dvou nejzávažnějších chorob, plísňě makové a helmintosporií máku, je v posledních letech vysoký. To je způsobeno hlavně velkým množstvím srážek, které vytvářejí ideální podmínky pro šíření patogenů v porostech, kde napadají nejen listy, ale i stonky a tobolky rostlin máku (Viková, 2011).

Helmintosporiová nekróza máku neboli „helmintosporiíza“ je latinsky označována jako *Helmintosporium papaveris*, někdy podle původce *Pleospora calvescens* či *Pleospora papaveracea*. Jako původce bývá někdy uváděna i houba *Dendrophion penicillatum*, která byla dříve považována za nepohlavní stádium *Pleospory*. Je pro mák také patogenní a vyvolává u něj obdobné příznaky (Vašák et al., 2010; <http://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/aktualni-prehled-ochrany-polnich-plodin-unor-a-brezen-2013.html>).

První příznaky helmintosporiízy se objevují už na mladých klíčících rostlinách. Kořenový krček napadených rostlin hnědne, zaškrcuje se a celá rostlina postupně odumírá. Napadení báze rostlin se ve vysoké míře vyskytuje na jedincích poškozených larvami živočišných škůdců. Na stoncích se později tvoří i několikacentimetrové modročervené pruhy (pásky). Napadení listů se projevuje až v pozdějších růstových fázích, nejčastěji v období kvetení a po odkvětu, a to ve formě tmavohnědých, hranatých skvrn, ohraničených listovou žilnatinou. Za sucha skvrny zasychají (obr. 8) a při vlhkém a deštivém počasí se pokrývají šedým povlakem mycelia a fruktifikačních orgánů houby (Hudec et al., 2007). V příznivých podmínkách (chladno, vlhko) houba přechází do makovic a tam napadá semena (Vašák et al., 2010). Silně napadené makovice jsou malé, deformované, na povrchu modročerné nebo fialové (obr. 9) a zejména při vlhkém a deštivém počasí pokryté hustým tmavým povlakem konidioforů a konidií. Někdy však bývají napadené makovice úplně bez vnějších symptomů, normálně vyvinuté. Avšak při jejich otevření je vevnitř viditelné rozrostlé mycelium, které způsobuje tvorbu zrn ve shlucích u přepážek makovice. Semena a celá makovina jsou tímto úplně znehodnocena (Hudec et al., 2007). Napadení je nejdříve viditelné na jednotlivých rostlinách nebo v ohniscích, později se šíří na celý porost.

Původci choroby přezimují na posklizňových zbytcích a mohou se přenášet i infikovaným osivem. Klíčící rostliny z napadených semen neprorostou ani nad povrch půdy.

Škodlivost helmintosporiízy je velmi vysoká – v příznivých podmínkách pro patogena (vlhko, chladno, půdní škraloup) až 50 % ztráty na výnosu (Hudec et al., 2007; Vašák et al., 2010; <http://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/aktualni-prehled-ochrany-polnich-plodin-unor-a-brezen-2013.html>).

Obr. 8, 9: List a tobolka máku setého napadené helmintosporiízou



Vedle helmintosporiízy způsobuje pěstitelům a hlavně osivářům největší škody **plíseň maková**, přestože ještě v roce 2005 bylo napadení rostlin jen ojedinělé. Původcem onemocnění je houba *Peronospora arborescens*.

Výskyt peronospory je nejvíce ovlivňován klimatickými podmínkami, přičemž nejdůležitějším faktorem pro rozvoj parazita je dostatečné množství srážek a vysoká vzdušná vlhkost. Optimální teplota pro infekci je 12 – 14 °C. Inkubační doba je v závislosti na teplotě a vlhkosti 4 – 5 dní (Vašák et al., 2010; Vlažný, 2010). Plíseň se může projevovat dvěma odlišnými typy onemocnění.

Při systemickém napadení z infikovaných semen proniká mycelium do stonku a kořene. Klíčící a vcházející rostliny pak mohou zcela odumřít, popřípadě jsou zakrslé a deformované. Ze stonku se napadení šíří do listů, od základu listu k jeho vrcholu. Na

horní straně listů se tvoří chlorotické skvrny, na spodní straně listu se v hranicích skvrn objevuje nízký, nejprve bělavý, později šedý, někdy až fialově šedý „kožíšek“ – povlak mycelia (Hudec et al., 2007; Kazda et al., 2007; Vašák et al., 2010). Napadené listy jsou na rozdíl od zdravých nápadně zhrublé, zkadeřavěné, křehké a jejich okraje se stáčí směrem dolů. Stonek může být často napaden jen z jedné části, která odumírá a zatímco druhá část stonku roste, dochází k deformacím a kroucení stonku máku. Pro rozvinutou plíseň je tak typické „hákovité“ ohýbání stonků pod makovicemi ve tvaru písmene „S“ (obr. 10). Napadené makovice jsou pokryty šedavým myceliem a semena jsou úplně znehodnocena (Hudec et al., 2007; Vašák et al., 2010). Tuto primární infekci mohou způsobit i oospory z infikovaných rostlinných zbytků na pozemku. Rostliny napadené primární infekcí většinou odumírají předčasně. Konidie z primárně napadených rostlin máku setého, anebo napadené rostliny máku vlčího mohou být zdrojem lokálních infekcí sekundárních (Vlažný et al., 2012a).

Průběh sekundárních infekcí je pro rostliny méně škodlivý. Rostliny jsou napadány ve fázi přizemní růžice a dlouhivého růstu. Na listech se tvoří ostře ohraničené, žlutavé skvrny, které postupně hnědnou a nekrotizují. Houba jen velmi slabě sporuluje na spodní straně listů a jemný šedý povlak je viditelný pouze za vlhkého počasí. Symptomy sekundárních infekcí se proto velmi často pletou se symptomy helmintosporiózy. Podobně systemické infekce bývají mylně považovány za brzký výskyt helmintosporiózy (Doubková, 2011; Hudec et al., 2007).

Celkové ztráty se při zanedbání ochrany mohou pohybovat od 50 % výše a spolu s působením helmintosporiózy dokážou tyto choroby způsobit škody i 100 % (Vlažný, 2010). Z agrotechnických opatření je důležité použití zdravého osiva z uznaných množitelských porostů, dodržování delších odstupů v pěstování máku v osevním sledu (4 – 5 let), včasné vyjednání vzešlých rostlin a rozrušení půdního škraloupu. Osivo mořené mořidlem s fungicidní složkou omezuje přenos infekce ze semen na rostliny (Hudec et al., 2007; Vašák et al., 2010).

Obr. 10, 11: Tobolky máku setého napadené plísní makovou



Metodika hodnocení napadení máku plísní makovou a helmintosporiózou podle Plachké, 2005 používá pro určení vývojové fáze porostu obecnou stupnici růstových fází plodin a plevelů BBCH.

Hodnocení napadení listů se provádí bezprostředně před fungicidním ošetřením, dále 4 týdny po ošetření. V případě výskytu choroby mimo uvedený termín se hodnocení provádí při zaznamenaném výskytu. U rostlin napadených před aplikací se u dalších hodnocení podchytí jejich růst a vývoj – zda rostlina odumřela nebo dokončila svůj vývoj. Hodnocení stonků se provádí v růstové fázi zelené makovice (BBCH 71) až do konce zelené zralosti (BBCH 79). Ve stejné fázi se hodnotí napadení tobolek plísní makovou. Napadení tobolek helmintosporiózou máku se hodnotí v době sklizňové zralosti (BBCH 97 – 99). Hodnotí se jak povrchové napadení, tak napadení vnitřku tobolky.

3.6.3 Škůdci máku setého

Mák má v současné době cca 10 – 12 potenciálních škůdců z hmyzí říše. Za hospodářsky významné bychom mohli v závislosti na ročníku a lokalitě považovat 4 – 5 druhů (Vlažný et al., 2012b).

Bejломorka maková – *Dasineura papaveris* je škůdce, jehož larvy vysávají vyvíjející se semena a vnitřní pletiva makovic, v důsledku čehož se makovice nepravidelně vyvíjejí, jsou deformované, zakrslé a velmi často sekundárně napadené chorobami. Bejlomorky jsou titěrní nenápadní „komárci“ velcí 1 – 4 mm. Škodlivé jsou pouze beznohé oranžové larvy bejlomorky. Dospělci neškodí. Ochrana proti tomuto škůdci se neprovádí (Hudec et al., 2007; Kazda et al., 2007; Vašák et al., 2010).

Žlabatka stonková – *Timaspis papaveris* je drobný blanokřídlý hmyz kladoucí vajíčka do stonků máku (Rotrekl, 2012). Na stoncích jsou v místech vpichu (kladení vajíček) malé černé výrony zaschlé tekutiny (Vašák et al., 2010). Larvy způsobují svým žírem ve stonku chodbičky v těsné blízkosti cévních svazků a tak může dojít k jejich poškození. Makovice předčasně žloutnou a zasychají nebo dokonce odumírají celé rostliny (Rotrekl, 2012). Larvy **žlabatky makové** – *Aylax minor* a **žlabatka makovicová** – *Aylax papaveris* se vyvíjejí uvnitř makovic, které přeměňují v hálky. Speciální ochrana se proti žlabatkám také neprovádí (Hudec et al., 2007).

Klopuška dvoutečná – *Calocoris norvegicus* škodí lokálně na okrajích porostů řady plodin, i máku. Je to ale zatím málo významný škůdce. Nymfy a dospělci sají na různých nadzemních částech rostlin, nejčastěji na vegetačních vrcholech, listech a plodech. Sáním poškozené pletivo žloutne a vznikají nekrotické skvrny. U posátých listů může dojít až k trhání pletiv. Květy a mladé plody mohou opadnout. Rostliny máku jsou silně deformované a po sání roní mléko. Ochrana proti klopušce dosud nemá ekonomické opodstatnění (Vašák et al., 2010; Kazda et al., 2007).

Mezi hlavní škůdce máku patří **mšice maková** – *Aphis fabae*, která může v případě silného výskytu způsobit vážné škody na rostlinách. Na mák se přesouvá v květnu až červnu z brslenu, kaliny či jiných druhů keřů, kde přezimuje (Hudec et al., 2007). Černohnědé kolonie lze pozorovat na spodních stranách listů (obr. 12), na stoncích i makovicích, kde mšice škodí sáním. Odnímají z rostlin velké množství tekutin, vylučují medovici a přenášejí virózy rostlin. Sání mšic způsobuje různé deformace pletiv

a bývá doprovázeno i změnou barvy poškozených míst. Napadené rostliny jsou slabé a nasazují malé makovice.

Obr. 12: Kolonie mšice makové, *Aphis fabae*, na spodní straně listu máku setého



Po zjištění výskytu mšic, kdy více než 5 % rostlin je napadeno, je potřebné uskutečnit chemickou ochranu. Mšice maková je černá s bílou kresbou. Z hlediska ochrany však není přesná identifikace druhu potřebná. Preventivní ochrana spočívá v podpoře přirozených nepřátel, tj. používání přípravků, které je nehubí. Dále je potřebné omezovat výskyt hostitelských dřevin v blízkosti pěstování máku (Hudec et al., 2007; Kazda et al., 2007; Vašák et al., 2010).

Mezi škůdce máku, kteří se v porostu vyskytují a způsobují škody pravidelně, patří středně velcí brouci z čeledi nosatcovitých (*Curculionidae*). 3 – 4 mm dlouzí brouci s lomenými tykadly mají nápadný nosec, který při chycení skrývají pod bříško a podle toho dostali jméno – **krytonosci** (Kazda et al., 2007; Vlažný et al., 2012b).

Jedná se především o **krytonosce kořenového** – *Stenocarus ruficornis* (obr. 13). Zbarvení je šedočerné až černé s hedvábným leskem, na zadečku je zřetelná bílá skvrnka (<http://www.syngenta.com/country/cz/cz/reseni-syngenta/skudci/Pages/krytonosec-korenovy.aspx>).

Obr. 13: Krytonosec kořenový, *Stenocarus ruficornis*



(© Dvořák, 2011)

Tento velmi nenápadný nosatec přežívá zimu jako dospělec schovaný v půdě nebo v hliněných kokonech, ze kterých vylézá až na jaře. Do porostu začíná nalétat od druhé poloviny dubna po několika málo dnech s maximální teplotou přesahující 15 °C (Vlažný et al., 2012b; <http://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/aktualni-prehled-ochrany-polnich-plodin-unor-a-brezen-2013.html>). Potravu přijímá v dopoledních hodinách, odpoledne se zdržuje v úkrytech na povrchu půdy. Listy mladých rostlinek máku poškozuje okrajovým až děrovým žírem (obr. 14) (Vašák et al., 2010). Často je zničen vegetační vrchol (vyslepnutí). Tímto tzv. úživným žírem škodí na máku 5 – 6 týdnů (Kazda et al., 2007). Oplodněné samičky poté kladou vajíčka do vykousaných jamek v hlavní žilce listu. Vylíhnuté larvy jsou rohlíčkovitého tvaru, beznohé, žlutavé s výraznou tmavou hlavou. Nejdříve minují v listech, následně z listů vypadávají a zavrtávají se do půdy, kde poškozují hlavní křovité kořeny vyžíráním jamek a chodbiček. U jedné rostliny může být 10 i více larev. Rostliny postupně chřadnou, nekvetou a podléhají hnilobě. Na základě poškození krytonoscem se na máku často následně vyskytuje helmintosporiíza. Larvy se kuklí ve vejčitých hliněných kokonech v půdě. Někteří dospělci se na podzim ještě krátce živí na rostlinách, ale většinou zůstávají v půdě, kde přezimují (Hudec et al., 2007; Kazda et al., 2007; <http://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/aktualni-prehled-ochrany-polnich-plodin-unor-a-brezen-2013.html>).

Obr. 14: Mladé rostlinky máku setého poškozené žírem dospělců krytonosce kořenového



Krytonosec kořenový je každoročně ekonomicky významným škůdcem. Poškození rostlin se pohybuje od 30 do 100 %. Silný výskyt může být celoplošný i ohniskový (obr. 15, 16) (Vašák et al., 2010).

Obr. 15, 16: Porost máku setého zdecimovaný krytonoscem kořenovým



Je to brouk suchomilný a teplomilný. Jarní chladné a deštivé počasí a zvláště déletrvající mrazy jsou pro jeho vývoj nepříznivé. Škody způsobuje především za sucha, zvláště u pozdně setých nestejněmzně vzházejících porostů. Rozsah škod lze tedy

omezit raným výsevem a všemi agrotechnickými opatřeními urychlujícími vývoj a růst rostlin. Samozřejmostí je vysévat insekticidně mořené osivo, které prokazatelně navyšuje výnos a snižuje napadení kořenů larvami oproti nemořeným variantám. Moření zajistí ochranu krátkou dobu po vzejití máku. Proto je nutné sledovat nálet škůdců do porostu, případně monitorovat intenzitu napadení. Při výskytu 3 – 4 brouků na 1 metru řádku je nutné provést plošné foliární insekticidní ošetření. Porost se ošetřuje do fáze 4 – 5 pravých listů (Vašák et al., 2011; Vlažný et al., 2012b; <http://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/aktualni-prehled-ochrany-polnich-plodin-unor-a-brezen-2013.html>). Cílem je, aby samice holožírem nezničily vzcházející rostlinky, popř. nemohly po žíru naklást vajíčka na rostlinky zbývající (Vlažný et al., 2010). Larvy přímo hubit nelze. Musí se zabránit dospělcům v kladení vajíček (Kazda et al., 2007). U odrostlejších rostlin ani v průměru čtyři požerky larev/kořen neznamenají výnosový rozdíl (Vlažný et al., 2010).

Kromě krytonosce kořenového je možné na rostlinách máku pozorovat i **krytonosce makovicového** – *Neoglocianus macula-alba*, syn. *Ceutorhynchus macula-alba*, který je ve starší literatuře uváděn pod více českými názvy a to krytorypec běloskvrnný, krytonosec běloskvrnný nebo „sokolníček“. Ten však nepoškozuje listy ve významné míře (Hudec et al., 2007; Muška et al., 2012). Má šedavou barvu a ve švu krovek výraznou bělavou skvrnu (Vašák et al., 2010). Dospělci přezimují v kokonech v půdě na poli, kde se v předcházejícím roce mák pěstoval, a začínají se aktivovat v první polovině května. Při jarním žíru vyžírají do stonků a mladých makovic podélné rýhy. Pokud nejsou požerky příliš hluboké a neobnažují dřeň, není toto poškození příliš významné. Obvykle ihned po rozvinutí květů jsou pak do rozvíjejících se makovic kladena vajíčka. Samička svým noscem hloubí jamku, kam naklade vždy jen jedno vajíčko. Makovičky na svou obranu při ataku prýští latex. Na jedné makovici může být i více než 10 jamek. Larvy jsou beznohé (apodní), bělavé až nažloutlé s hnědou diferencovanou hlavou (eucephalní). Živí se vnitřními přepážkami makovic a zejména tvořícími se semeny. Vývoj larvy trvá od dvou maximálně do tří týdnů, poté se larva kuklí v půdě. Vytváří si hliněný kokon, ve kterém dospělec přečká zimu.

Požerek larev významně ovlivňuje výnos (Kazda et al., 2011). Při silném přemnožení může být poškozeno 50 – 70 % makovic. Z preventivní ochrany se doporučuje pravý opak preventivních opatření proti krytonosci kořenovému –

pozdější výsev máku. Proto nejdůležitějším preventivním opatřením zůstává výsev máku co možná nejdále od loňských ploch. V případě potřeby se doporučuje chemické ošetření v období před kvetením, ve stadiu tzv. háčkování poupat (Hudec et al., 2007).

3.7 Faktory ovlivňující biosyntézu alkaloidů v rostlinách *Papaver somniferum* L.

Obsah alkaloidů může být ovlivněn nejrůznějšími faktory. Když opomineme geneticky zakódované vlastnosti jednotlivých odrůd, podléhá biosyntéza alkaloidů v rostlině vlivu agrotechnických opatření a nejrůznějších stresových faktorů prostředí.

Mezi obsahem alkaloidů a morfologickými vlastnostmi neexistuje žádná významná korelace (Dittbrenner et al., 2009).

Nejdůležitější stresové faktory, se kterými se rostliny setkávají v přírodě, můžeme rozdělit na biotické a abiotické faktory. Mezi ty biotické patří například vzájemné ovlivňování rostlin, spásání či poranění herbivorními živočichy či vliv patogenních mikroorganismů. Abiotické stresory můžeme rozdělit ještě na fyzikální, např. extrémní teploty, nadměrné záření, mechanické účinky větru a chemické, např. toxické kovy a organické látky v půdě, nedostatek vody, nedostatek kyslíku, nedostatek živin v půdě apod. (Procházka et al., 1998).

Zásadní vliv na výnos mají klimatické podmínky roku (Stránská et al., 2013). Změny klimatu se i v našich oblastech projevují stále zřetelněji a už jen málokdo o tom dnes není přesvědčen. Tyto změny s sebou přinášejí výrazné výkyvy počasí v jednotlivých měsících, velmi nepravidelné a často přívalové srážky následované dlouhými obdobími sucha nebo naopak dlouhá deštivá období, kdy plodiny trpí nedostatkem vzduchu v půdě. Pěstované plodiny se tak v důsledku extrémního průběhu počasí musí vyrovnávat s řadou stresů, které negativně ovlivňují konečnou produkci. Tento negativní dopad je citelný zvláště u agrotechnicky náročných plodin, kam mák rozhodně patří (Bubeník, 2011). Extrémně deštivé počasí v průběhu července a srpna má u máku za následek zvýšené vymývání morfinu z makovic (Doležalová et al., 2011).

Teplo působí na biosyntézu alkaloidů kladně. Jeho vlivem se tvoří méně tuků. V důsledku negativní korelace mezi obsahem lipidů a proteinů tak dochází k nárůstu

bílkovin, které jsou prekurzory alkaloidů. Výsledkem je zvýšený obsah alkaloidů v makovině (Tatarčíková, 2008).

Počasí pěstitel neovlivní, měl by se však snažit negativní vlivy stresů co nejvíce eliminovat (Bubeník, 2011).

Zvýšení obsahu morfinu lze dosáhnout mechanizovanou sklizní sklízecími mlátičkami vybavenými adaptéry. Umožňují totiž sklizeň tobolek máku s co nejkratším stonkem. Ten obsahuje jen nízké množství morfinu, a tím řadí jeho celkové množství v makovině (Zukalová et al., 2007). Tak např. sklizní máku pomocí adaptéru SMG 500 maďarské výroby se podařilo snížit podíl stonků v makovině z 30 % na 12 % oproti sklizni žací lištou (Vlk, 2006).

Co se dalších agrotechnických opatření týče, podle Doležalové et al. (2011) při maloparcelkových pokusech na Výzkumné stanici Červený Újezd v letech 2008 – 2010 mělo fungicidní ošetření spíše negativní vliv na obsah morfinu v makovině. Neošetřená kontrola vykazovala vždy vyšší množství morfinu oproti ostatním variantám a to přibližně o 10 %.

Pěstitelé by měli volit průmyslové odrůdy s vysokým obsahem morfinu, poněvadž v průběhu doporučené pěstební technologie a podle ročníku dochází ke snížení obsahu morfinu zhruba o jednu třetinu až polovinu (Zukalová et al., 2007).

3.8 Odrůdy *Papaver somniferum* L.

Šlechtitelské cíle

Hlavním šlechtitelským cílem bylo v minulosti vyšlechtění odrůdy univerzálního typu, tzn. s vysokým výnosem kvalitního semene a zároveň s vysokým obsahem morfinu v tobolkách. Vyšlechtění takovéto odrůdy je však problematické z důvodu existence negativní korelace mezi těmito dvěma znaky (Vašák et al., 2010).

Na pracovištích Výzkumného ústavu olejnin Opava (odštěpném závodu OSEVA PRO s.r.o.) má šlechtění máku tradici od roku 1991. V rámci šlechtění nových odrůd a vedení genofondu máku je zde každoročně analyzována řada vzorků makoviny na obsah alkaloidů. Sledován je také výnos jednotlivých odrůd máku. ÚKZÚZ provádí státní odrůdové zkoušky a sdružení Český mák realizuje rozsáhlé odborné vývojové a výzkumné práce. Z dosažených výsledků jasně vyplývá, že mezi odrůdami jsou často značné rozdíly. Odrůdy vyšlechtěné pro produkci semene nejsou vhodné pro produkci

alkaloidů a naopak (Vlk et al., 2011; Vrbovský et al., 2011;

http://www.sdruzeni.ceskmak.cz/?q=o_sdruzeni).

Šlechtění máku se proto již nesoustřeďuje na vyšlechtění „univerzální odrůdy“. Nyní je zaměřeno buď na škálu a kvantitu produkovaných alkaloidů, především morfinu (technický mák), nebo na výnos a barvu semene (potravinářský mák) (Stránská et al., 2013). Vašák et al. (2010) uvádějí jako třetí šlechtitelský směr okrasné odrůdy máku se speciálním květem nebo tvarem tobolky.

Vybrané odrůdy *Papaver somniferum* L.

Původem polská odrůda **Lazur** náleží do Státní odrůdové knihy ČR. Jde o typ jarní, modrosemenný s vyšším obsahem morfinu. Pěstuje se jak k produkci semene pro potravinářské účely, tak k produkci makoviny pro farmaceutický průmysl. Vytváří tobolky typu „slepák“ – výskyt „hledáků“ je nízký až středně vysoký. Rostliny této středně rané odrůdy jsou středně vysoké až vysoké, středně odolné proti poléhání. Středně odolná je odrůda i proti helmintosporióze na listech a proti prorůstání mycelia helmintosporií do tobolek. Proti plísni makové je odolná méně až středně. Semena mají střední obsah oleje a v makovině Lazuru je středně vysoký až vysoký obsah morfinu (Vašák et al., 2010).

Obr. 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23: Rostliny odrůdy Lazur v různých vývojových fázích





Další z odrůd, **Orfeus**, byla vyšlechtěna ve Výzkumném ústavu olejnin Opava a v roce 2009 registrována na Slovensku. Je zapsána ve Státní odrůdové knize SR a také

ve Společném katalogu odrůd druhů zemědělských rostlin. Jarní, modrosemenná odrůda s nižším až středně vysokým obsahem morfinu je určena k produkci semene pro potravinářský průmysl a makoviny pro farmacii. Tobolky jsou typu „slepák“ s nízkým výskytem „hledáků“. Rostliny mají středně dlouhou vegetační dobu a jsou středně vysoké, dobře odolné proti poléhání a vyvracení před sklizní. Odolnost proti nejvýznamnějším makovým chorobám je také dobrá. Obsah oleje v semenech je středně vysoký (Vrbovský et al., 2010).

Odrůda **Orbis** byla vyšlechtěna firmou OSEVA PRO s.r.o. a dnem registrace 19.7.2012 byla zapsána do Státní odrůdové knihy ČR (ÚKZÚZ – Databáze odrůd). Tento jarní, modrosemenný mák dosahuje středně vysokého až vysokého obsahu morfinu. Odrůda je určena k produkci semene pro potravinářské účely a makoviny pro farmaceutický průmysl. Jedná se o odrůdu středně ranou, typu „slepák“. Výskyt „hledáků“ je nízký. Rostliny jsou nízkého vzrůstu, odolné proti poléhání. Odolnější je také proti houbovým chorobám. Obsah oleje v semeni je středně vysoký. Orbis nemá výrazná pěstitelská rizika (Vrbovský, 2012; Zehnálek et al., 2013).

Šlechtitelem zatím neregistrované odrůdy **OP-P-13** je OSEVA PRO s.r.o. Žádost o registraci k ÚKZÚZ byla podána 14.12.2012. Obsah morfinu v makovině je nižší. Odrůda je středně odolná proti houbovým chorobám (ÚKZÚZ – Databáze odrůd; Vrbovský, 2012).

3.9 Agrotechnická opatření

I přes ekonomickou rentabilitu a zaregistrování nových přípravků do máku patří mák stále k náročným a rizikovým plodinám z hlediska jeho pěstování. Významnou roli při zvyšování intenzity pěstování a dosahování vyšších výnosů stále sehrává kvalitní příprava půdy, setí, ochrana proti plevelům, škůdcům a proti houbovým chorobám máku (Kulhánek, 2011). Jednoznačně ale platí, že kvalitu vždy určuje genetický základ – odrůda, který je významně modifikován pěstebním ročníkem a ostatní agrotechnická opatření tuto kvalitu mění velmi nepatrně. Mají za svůj hlavní úkol eliminovat právě vliv ročníku. Zastávají tedy spíše ochrannou roli před škodlivými činiteli během vegetace (Doležalová et al., 2011).

Pěstební technologie máku včetně rozšíření sortimentu odrůd v posledním desetiletí doznala významných změn, které by měly vést ke zvýšení výnosů a kvality

makového semene i makoviny (Roubal, 2011). Hlavní součásti pěstitelského systému jsou stručně popsány níže, přičemž každá sama o sobě má jen malý či žádný vliv. Dohromady však mohou přinést úspěch (Vašák et al., 2010).

Pro **výběr lokality** platí pouze omezení na velmi těžkých slévavých půdách s častou tvorbou škraloupu, kde mák těžko vzchází a bývá častěji napadán houbovými chorobami. Jinak se dá mák úspěšně pěstovat ve všech produkčních oblastech České republiky (Vašák et al., 2010).

Je vhodné zasít **kvalitní osivo** od renomovaných množitelů s vynikajícími osivářskými parametry. Na výběr je přitom celá řada odrůd. V každém případě je vhodné mořené osivo insekticidně-fungicidním nebo alespoň insekticidním mořidlem. V poslední době se využívá i dalších metod zvýšení výkonnosti osiva, např. použití osiva z podzimních výsevů, kalibrace, inkrustace nebo prehydratace osiva. Velikost výsevu je diskutabilní. Výsevek by měl být na úrovni 1,5 kg osiva/ha, u těžších půd 1,75 kg osiva/ha. Přehnaně vysoký výsevek, zvláště pokud se mák seje do kvalitně připravené půdy, má za následek přehoustlé porosty, které jsou minimálně odolné proti nepřízní počasí a často poléhají (Roubal, 2011; Vašák et al., 2010).

Pro mák je vhodná jak orební, tak i bezorební **předseťová příprava**. Při výběru redukovaného zpracování půdy (minimalizačního postupu) se doporučuje hluboké kypření na minimální hloubku 15 cm. Při mělčím zpracování a na utužených půdách je omezen dlouhivý růst hlavního kořene. Rostliny jsou náchylné k poléhání a nejsou schopné čerpat živiny a vláhu z hlubších vrstev půdy. Při orebném zpracování se doporučuje podzimní urovnání povrchu půdy. Na jaře pak stačí jeden přejezd branami. Hloubka přípravy by měla být do 5 cm (Cihlár et al., 2012; Vašák et al., 2010).

Setí nelze uspěchat. Hrozí zamazání, a tím nevzejití. Vyséváme do strukturní a vyhráté půdy (Vašák et al., 2010). Ideální termín výsevu je v podmínkách řepářského výrobního typu v rozmezí cca 10 dnů koncem března až začátkem dubna (27.3. – 6.4.). Většinou platí, čím časnější výsevek (únorové a březnové výsevy), tím náchylnější je vzcházející porost k poškození mrazem. Pokud však toto riziko mák ustojí, dosahuje zpravidla vysokých až rekordních výnosů (Roubal, 2011). Vysévat můžeme všemi dostupnými secími stroji, které dokážou zabezpečit výsevek 1,5 – 1,75 kg osiva/ha a uložení osiva do hloubky maximálně 2 cm na vlhké dno seťového lůžka (Vašák et al., 2010).

Mák je velmi náročný na **výživu a hnojení**. K dosažení dobrých výnosů vyžaduje optimální obsah všech biogenních prvků v půdním prostředí. Z půdy odčerpává především značné množství dusíku, stejné množství draslíku a vápník ve srovnatelném množství. Odběr fosforu je relativně nižší. Mák má poměrně velkou potřebu bóru. Při hnojení je důležité brát ohled na obsah „zbytkového“ půdního dusíku a na obsah ostatních živin a správně načasovat aplikaci hnojiv. Příjem živin během vegetace probíhá ve dvou hlavních fázích: počátkem vegetace až do vzniku generativních orgánů (potřeba dostatečného příjmu dusíku a fosforu) a v době od počátku květu až do období zrání (uplatňuje se fosfor a draslík, dusík může působit negativně) (Doležalová et al., 2011; Farmář, 2008; Roubal, 2011).

Výrazné změny a zlepšení doznala herbicidní technologie. Boj mezi čistě preemergentní a postemergentní metodou **regulace zaplevelení** (před a po vyklíčení semene) ustal a ve většině případů dochází k propojení a kombinování obou. Pro všechny postemergentní aplikace herbicidů proti dvouděložným plevelům platí jedna zásadní podmínka – mák musí mít na povrchu listů dostatečně silnou voskovou vrstvičku. To znamená, že nejméně dva dny před aplikací by mělo být suché počasí (Sikora, 2010). Problémy jsou však stále s pozdním zaplevelením a tolerancí některých plevelů k současně používaným registrovaným účinným látkám. Proto je nutné proti plevelům bojovat všemi možnými prostředky i v ostatních plodinách a využívat prvky elementární agrotechniky. Nejdůležitějším agrotechnickým opatřením, zvláště v boji proti hlubokokořenícím plevelům, zůstává orba. Minimalizační postupy bezorebného pěstování bohužel přispívají k růstu zaplevelení, které je v rámci osevního postupu nutno řešit častějšími herbicidními zásahy. Málo využívané předsklizňové ošetření máku výrazně přispívá nejen k urychlení sklizně, ale zejména k docílení lepší kvality máku i makoviny (čistota, vlhkost, zvýšení obsahu morfinu) (Roubal, 2011).

K **ochraně proti chorobám a škůdcům** je registrována také řada přípravků. Ty velmi dobře pokrývají všechny hlavní škůdce máku. Byla registrována řada fungicidů především proti helmintosporióze. V ochraně proti plísni makové jsou zatím určité rezervy (Roubal, 2011). Základem ochrany je moření osiva (Vašák et al., 2010). Některé další zákroky však musí být vedeny se zvýšeným ohledem na vyšší citlivost rostlin máku ke stresu, který je vyvoláván aplikací pesticidů. Pokud se v daném roce na porostech

nevyskytne patogen v míře ohrožující výnos, je lepší aplikace pesticidů omezit (Doležalová et al., 2011).

Nezřídka je prováděna **regulace růstu** máku vnější aplikací syntetických růstových regulátorů (morforegulátorů). V praxi se nejvíce využívají **retardandy** – přípravky s inhibičním působením na dlouhivý růst rostlin, čímž se snižuje riziko poléhání porostu (Vašák et al., 2010). To totiž často způsobuje kolísání výnosu máku, makoviny i jejich kvality. Výnosové ztráty při silné úrovni poléhání mohou dosáhnout až 50 % (Tatarčíková, 2008). V současnosti je potřeba nalézt morforegulátor, který by eliminoval časté poléhání porostů máku a přitom nesnížil výnos semene máku (Vašák et al., 2010). S cílem snížení stresových účinků sucha, mechanického poškození kroupami, žírem hmyzu nebo vlivem herbicidů, jsou zařazovány do pěstební technologie máku **stimulátory** anorganické i organické povahy. Jejich kladný vliv je využíván i při moření osiva pro zvýšení klíčivosti, urychlení vzcházení a počátečního růstu máku (Roubal, 2011). Pokud se v porostu objeví pozdní zaplevelení nebo je porost řídký a nadměrně navětvený, **reguluje se zrání** desikací vhodnými přípravky v době, kdy se semena na hlavním stonku v makovici oddělila od přepážek.

Sklizeň máku je nejvhodnější při vlhkosti semen do 10 % a to pouze ve směsi semen s makovinou (Vašák et al., 2010). Znamená to, že se mák sklízí až v plné zralosti, kdy semeno při pohybu v makovici chrastí. Nevyzrálá semena jsou totiž vystavena příliš velkému mechanickému namáhání, nárazům a tlakům a lehce se tak mohou poškodit. Rychle pak ztrácí svoji potravinářskou hodnotu (Baranyk, 1996). Semeno je pro zemědělce prioritou. Makovina pro farmaceutický průmysl je v Česku jen vedlejším produktem (Motýl, 2007). Při sklizni směsi máku a makoviny byly naměřeny výrazně nižší ztráty než při přímé sklizni (samotné semeno) (Kumhála et al., 2002).

Správně sestavený **osevní postup** je tím nejlepším způsobem, jak bezplatně zlepšit výkonnost plodin. Mák, zaoraný či jinak do půdy zapravený, si uchovává hospodářsky významnou klíčivost po dobu 4 let. Z toho důvodu nelze v jednom osevním postupu pěstovat různobarevné máky. Vzájemně se zaplevelují. Odstup od jiné barvy má být nejméně 5 let. Obecně by se měl mák po sobě řadit nejdříve za 4 – 5 let. Tam, kde je pole zaplevelené vlčím mákem, nemá smysl mák setý vysévat. Zaplevelení máku mákem se totiž nedá herbicidy vyřešit. Obdobné je to i s blínem. Jeho semena se nedají ze sklizeného máku odstranit. Jakékoliv plodiny a pozemky, kde

jsou vytrvalé plevely, nejsou pro mák vhodné. Zcela nevhodná je kombinace s řepkou. Odstup mezi ní a mákem by měl být alespoň 5 let, opět z důvodu zaplevelování.

Mák je citlivý na rezidua herbicidů, zejména sulfonylmočoviny. Proto je u nich nutno při pěstování obilovin (jako meziplovin) dodržovat dávkování, nejlépe na spodní hranici rozpětí. Máku se nedaří po vymrzajících meziplovinách, kdy se půda nedá dobře připravit.

Mák je vítanou předplodinou pro ozimé obiloviny, především pro pšenici (Vašák et al., 2010). Ta dává po máku cca o 10 – 15 % vyšší výnosy než po ozimé řepce. Toto navýšení výnosu by mělo být připočteno máku. V osevním sledu má mák stejné místo jako řepka olejka – bývá zařazován jako přerušovač mezi dvě obiloviny.

Podle slov Ing. Schreiera – nestora českého máku, ale jednou za sedm, osm let mák prostě nevyjde, i když pro to uděláme všechno (Roubal, 2011).

3.10 Ekologický mák

Podle statistických údajů Ministerstva zemědělství ČR činila výměra zemědělské půdy fungující v režimu ekologického zemědělství (EZ) v České republice k 31.12.2012 přesně 488 658 ha, což je 11,46 % z celkového zemědělského půdního fondu ČR. Podíl orné půdy na výměře EZ byl přitom pouhých 11,76 % (MZe, 2013).

Poptávka po máku v tzv. „biokvalitě“ je mimořádná a navíc trvale roste (Kuchtová et al., 2012). V roce 2011 (data za rok 2012 zatím nejsou dostupná) se „biomáku“ vyprodukovalo jen 0,46 tuny (Hrabalová et al., 2012). Proto by produkce ekologického máku mohla být pro pěstitele zajímavá (Kuchtová et al., 2012). Navíc dá mák v EZ spíše vyšší výnosy, než tomu bude u standardní (konvenční) produkce (Vašák et al., 2010). Ekologický mák dal s 1,22 t/ha v roce 2010 (Hrabalová et al., 2011) výnos 265 % oproti máku konvenčnímu s výnosem 0,46 t/ha (ČSÚa). Nutno ovšem poznamenat, že u ekologicky pěstovaného máku jde o sklizně ze zanedbatelných ploch (Kuchtová et al., 2012). Výnosy v roce 2011 tento trend ovšem nepotvrdily. Výnos konvenčního máku byl v tom roce 0,85 t/ha (ČSÚb), zatímco produkce ekologického máku zaostala na 0,60 t/ha (Hrabalová et al., 2012). Pěstovat mák ekologicky totiž není jen tak a ročník a ostatní biotické faktory zde hrají ještě větší roli než u standardního pěstování. Proti jeho nepřízni se totiž nedá bojovat všemi prostředky, které jsou tak efektivní v intenzivním způsobu pěstování.

Podle zákona č. 242/2000 Sb., o ekologickém zemědělství, se ekologickým zemědělstvím rozumí zvláštní druh zemědělského hospodaření, který dbá na životní prostředí a jeho jednotlivé složky stanovením omezení či zákazů používání látek a postupů, které zatěžují, znečišťují nebo zamořují životní prostředí nebo zvyšují rizika kontaminace potravního řetězce, a který zvýšeně dbá na vnější životní projevy a chování a na pohodu chovaných hospodářských zvířat.

Z tohoto zákona dále vyplývají zásady EZ, které se dotýkají v podstatě všech agrotechnických postupů. Ty jsou upraveny tak, aby vedly k optimalizaci životních podmínek pro všechny organismy včetně člověka (Moudrý et al., 2007).

Zásadním krokem k dosažení tohoto cíle je regulace škodlivých činitelů odlišným způsobem, než který je využíván v konvenci. Cílem ochrany rostlin v EZ je především odstranit příčiny výskytu škodlivých organismů. Pro ekologické pěstování rostlin mají proto největší význam nepřímé metody ochrany rostlin a preventivní opatření. Teprve v případě, když se škodlivé organismy přemnoží nad únosnou míru, jsou používány přímé metody ochrany. Cílem není vyhubení patogenů, ale jen jejich regulace. V EZ nejsou povoleny žádné herbicidy (Urban et al., 2003). Přímá regulace plevelů se provádí především mechanicky (plečkováním, vláčením, podrýváním). Jsou povoleny fyzikální metody regulace včetně termických. Přímá regulace chorob a škůdců je možná pomocí postupů a přípravků povolených k použití v EZ. Jedná se především o fyzikální a biologické metody regulace (Moudrý et al., 2007). Seznam přípravků registrovaných v ČR lze nalézt na webu české akreditované kontrolní a certifikační organizace KEZ o. p. s. (<http://www.kez.cz/pripravky-na-ochranu-rostlin>).

Je zřejmé, že ekologické pěstování má svá přísná specifika. Garantem dodržování pravidel pro EZ, a to jak národní, tak evropské legislativy, je Ministerstvo zemědělství (<http://eagri.cz/public/web/mze/zemedelstvi/ekologicke-zemedelstvi/>). Úřední kontrolu dle nařízení Evropského parlamentu a Rady (ES) č. 882/2004, o úředních kontrolách za účelem ověření dodržování právních předpisů týkajících se krmiv a potravin a pravidel o zdraví zvířat a dobrých životních podmínkách zvířat, zajišťuje státní kontrolní orgán – ÚKZÚZ (<http://eagri.cz/public/web/mze/zemedelstvi/ekologicke-zemedelstvi/kontrola/>).

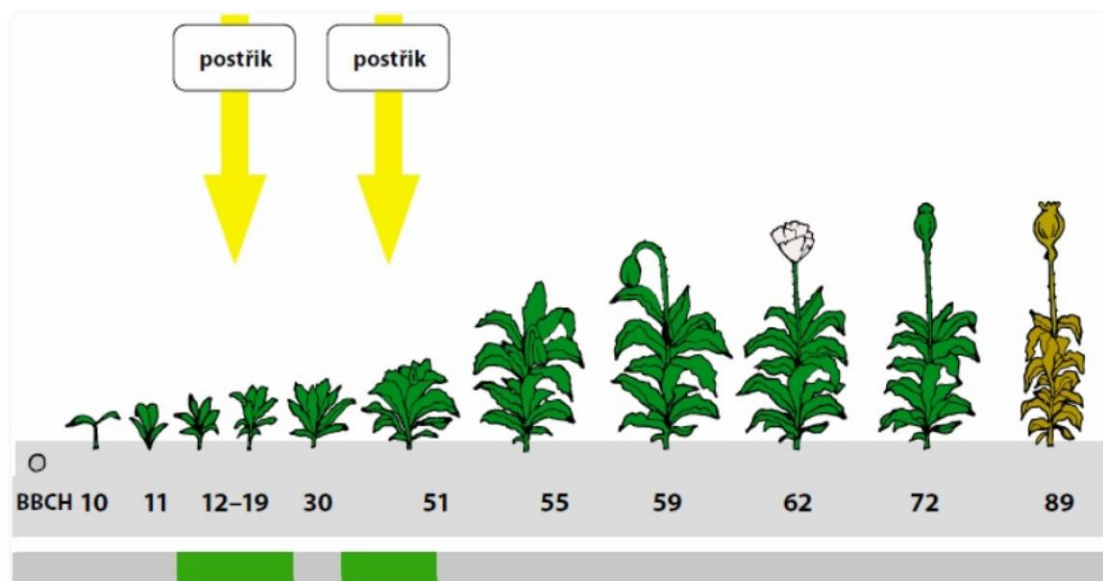
3.10.1 Polyversum

Jedním z přípravků na ochranu rostlin, registrovaných v České republice, které je možné použít v EZ, je přípravek Polyversum. Účinným organismem je v něm houba *Pythium oligandrum*, přesněji její oospory. Využívá se k potlačení houbových chorob u řepky olejky, okurky, máku setého, jahodníku, pšenice, ječmene, žita, tritikale v systémech EZ, slunečnice, chmele, révy, hořčice, papriky, rajčete, lesních a okrasných dřevin, zeleniny a brukvovité zeleniny (KEZ, 2012). U máku se Polyversum od roku 2008 používá k ochraně proti plísni makové a helmintosporióze máku.

Pythium oligandrum je přirozený půdní mikroorganismus, vykazující mykoparazitismus na fytopatogenních houbách. *Pythium oligandrum* patogena aktivně vyhledá, obroste jeho mycelium či generativní orgány a enzymaticky je rozloží na jednoduché složky, které pak využívá pro svou výživu a stavbu vlastního mycelia. Kromě toho také přípravek Polyversum indukuje rezistenci rostliny vůči chorobám nadzemních částí a stimuluje růst rostlin. Rostliny lépe překonávají nepříznivé podmínky prostředí a růstová stimulace je i jedním z předpokladů vyššího výnosu.

U máku setého se provádí maximálně 3 aplikace postřikem v dávce 0,1 kg/ha v 200 – 400 l vody/ha (Polyversum; <http://www.biopreparaty.eu/registrace/ceska-republika>). První aplikace se provádí ve fázi BBCH 12 – 19. Účelem je počáteční podpora růstu mladých rostlin a jejich ochrana před půdními mykopatogeny. Zároveň se časným ošetřením indukuje v máku přirozená rezistence. Druhá aplikace má za cíl redukovat výskyt fytopatogenů způsobujících plíseň makovou a helmintosporiózu máku. Postřik je možné provést od počátku prodlužovacího růstu do fáze nasazování pupat – do BBCH 51 (obr. 24). Polyversum nemá ochrannou lhůtu (http://www.biopreparaty.eu/images/stories/mak_POLYVERSUM.jpg; <http://www.biopreparaty.eu/zpusoby-aplikace/zpusoby-aplikace-pripravku-polyversum>).

Obr. 24: Růstové fáze máku setého, ve kterých se provádí postřiky přípravkem Polyversum



(© Biopreparáty, spol. s r. o.)

4 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

4.1 Pěstitelská část

4.1.1 Rostlinný materiál

V pokusu bylo použito osivo čtyř odrůd máku setého, *Papaver somniferum* L. – Lazur, Orbis, Orfeus a zatím neregistrované odrůdy OP-P-13. Osivo poskytla firma OSEVA PRO s.r.o., Výzkumný ústav olejin Opava.

U každé odrůdy byla zkoušena klíčivost semen, a to dvakrát. Hodnocení proběhlo 6.2.2012. Výsledky jsou uvedeny v tabulce 3.

Tab. 3: Klíčivost semen jednotlivých odrůd

Odrůda	Klíčivost semen [%]	
	Pokus založen 30.1.2012	Pokus založen 3.2.2012
Lazur	100 %	100 %
Orbis	100 %	96,7 %
Orfeus	93,3 %	93,3 %
OP-P-13	81 %	76,7 %

4.1.2 Charakteristika pokusného pozemku

Lokalita a uspořádání pokusu

Pro pokus byl vymezen pozemek o celkové rozloze 240 m² v botanické Zahradě léčivých rostlin Univerzity Karlovy, při Farmaceutické fakultě v Hradci Králové. Plocha byla rozdělena na 24 parcel o rozloze 10 m². Na každou odrůdu připadly 3 parcely, na kterých byl aplikován biofungicidní přípravek Polyversum a 3 parcely kontrolní, přípravkem neošetřené. Rozmístění odrůd na jednotlivých parcelách bylo náhodné. Schéma rozvržení pokusu ukazuje tabulka 4.

Tab. 4: Schéma rozvržení pokusu (rozmístění odrůd na parcelách)

Orfeus	OP-P-13	Orfeus	OP-P-13
Lazur	Orbis	Lazur	Orbis
Orfeus	OP-P-13	Orbis	Lazur
Lazur	Orbis	OP-P-13	Orfeus
OP-P-13	Orfeus	Lazur	OP-P-13
Orbis	Lazur	Orbis	Orfeus

Vysvětlivky: ošetřené
neošetřené

Charakteristika půdy

Půdní typ: kambizem (Hauptman et al., 2009)

pH půdy: 7,31

Předplodina: *Calendula officinalis* L., měsíček lékařský

Předchozí použití pesticidů na pozemku: žádné

4.1.3 Meteorologická data

Rok 2012 byl oproti dlouhodobému normálu teplotně nadprůměrný. Celkový úhrn srážek v měsících od zasetí po sklizeň (březen – srpen) činil 428 mm a pohyboval se tedy v normálu (426 mm). V jednotlivých měsících byly ale úhrny spíše nižší a měsíc červenec naopak vykázal 188 % normálu. V následujících tabulkách jsou uvedeny jednotlivé hodnoty naměřené v Královéhradeckém kraji v roce 2012 v porovnání s dlouhodobým normálem.

Tab. 5: Porovnání průměrných teplot ve vegetačních měsících máku v roce 2012 s dlouhodobým normálem (z let 1961 – 1990)

Měsíc	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.
Ø teplota vzduchu [°C]	4,5	8,1	14,4	16,5	18,0	17,7
Dlouhodobý normál [°C]	1,9	6,6	11,8	14,9	16,1	15,8
Odchylka od normálu [°C]	2,6	1,5	2,6	1,6	1,9	1,9

(Zdroj dat: ČHMÚa)

Tab. 6: Porovnání úhrnu srážek ve vegetačních měsících máku v roce 2012 s dlouhodobým normálem (z let 1961 – 1990)

Měsíc	III.	IV.	V.	VI.	VII.	VIII.
Úhrn srážek [mm]	14	33	62	77	156	86
Dlouhodobý srážkový normál [mm]	49	48	76	86	83	84
Odchylka od normálu [%]	29	69	82	90	188	102

(Zdroj dat: ČHMÚb)

4.1.4 Agrotechnické postupy

Předset'ová příprava pozemku

Pozemek byl nahrubo upraven, aby půda byla strukturní a zamezilo se tak vzniku škraloupu.

Výsev

Ošetření osiva: osivo nebylo mořeno

Datum setí: 26.3.2012 oseta polovina plochy, 27.3.2012 oseta zbývající část

Hloubka setí: 1 – 2 cm

Vzdálenost řádků: 12,5 cm

Stav osevního lůžka: suché, nekryté

Výsev byl proveden ručně a byla snaha o vysetí v průměru 1,75 kg osiva na hektar. Následující dny po vysetí byly chladné s občasným mrholením, ale půda zůstala suchá. První známky nerovnoměrného vzcházení byly zaznamenány 20.4.2012. Ten den pršelo teprve podruhé. Po dešti vzešly již všechny rostliny.

Ošetření rostlin

Rostliny byly ošetřeny přípravkem Polyversum, který obsahuje klíčivé oospory *Pythium oligandrum* (1×10^6 oospor/g přípravku) umístěné na minerálním nosiči. Aplikace přípravku byla provedena v souladu s doporučenou metodikou. Podle té se při foliární aplikaci množství přípravku odměřené na zamýšlenou ošetřovanou plochu nasype do čisté (několikrát propláchnuté) nádoby o obsahu cca. 20 litrů. Do nádoby se nalije 10 – 20 litrů čisté vody. Poté se celý obsah nádoby řádně promíchá a 20 – 30 minut se nechá stát pro vlastní aktivaci organismu. Po uplynutí této doby se obsah nádoby ještě jednou promíchá a přes přiložený filtr se prolije přímo do nádrže postřikovače. Vzniklá suspenze se musí aplikovat nejdéle do 10 hodin od prvního namočení přípravku Polyversum do vody (Polyversum; <http://www.biopreparaty.eu/zpusoby-aplikace/zpusoby-aplikace-pripravku-polyversum>; <http://www.biopreparaty.eu/ucinna-latka/o-produktu>).

Počet aplikací přípravku: 2

Způsob aplikace: postřik ručním postřikovačem o objemu 7 litrů

Datum první aplikace: 24.4.2012, ve fázi BBCH 12 – 19

Povětrnostní podmínky první aplikace: 16 °C, polojasná obloha, následovaly velmi horké dny, během nichž půda vyprahla, vydatný déšť byl zaznamenán až 3.5.2012

Datum druhé aplikace: 29.5.2012, ve fázi BBCH 51

Povětrnostní podmínky druhé aplikace: 25 °C, slunečno, sucho, déšť před 24 hodinami

Na parcely s kontrolními rostlinami byla místo suspenze přípravku Polyversum aplikována deionizovaná voda v odpovídajícím množství.

Hodnocení napadení

Jelikož hodnocení biologické účinnosti přípravku Polyversum nebylo hlavní náplní této práce, byla míra napadení všech částí rostlin helmintosporiózou, *Pleospora calvescens* a plísní makovou, *Peronospora arborescens* (jiná onemocnění nebyla na porostu zpozorována) zaznamenána teprve po provedení obou aplikací přípravku. Postupovalo se dle návodu Plachké z roku 2005 v příslušných vývojových fázích máku. V tabulce 7 je uvedena stupnice s třídami jako středními hodnotami.

Tab. 7: Stupnice pro hodnocení napadení máku setého helmintosporiózou a plísní makovou

Střední hodnota	Popis	Napadení
0 %	bez napadení	0 % listové plochy/stonku napadeno/tobolka bez napadení
5 %	slabé napadení	do 10 % listové plochy napadeno/napadeny části vedlejších stonků nebo celé vedlejší stonky, do 10 % celé rostliny napadeno/do 10 % povrchu/vnitřku tobolky napadeno
20 %	střední napadení	10 – 30 % listové plochy napadeno/napadeny části vedlejších stonků nebo celé vedlejší stonky, 10 – 30 % z celé rostliny napadeno/10 – 30 % povrchu/vnitřku tobolky napadeno
40 %	silné napadení	30 – 50 % listové plochy napadeno/větší napadení vedlejších větví a hlavního stonku, 30 – 50 % z celé rostliny napadeno/30 – 50 % povrchu/vnitřku tobolky napadeno
75 %	velmi silné napadení	50 – 100 % listové plochy/z celé rostliny/povrchu/vnitřku tobolky napadeno, rostlina odumřela

(Plachká, 2005 – přepracováno)

Touto metodou bylo číselně vyjádřeno zvlášť napadení listů, napadení stonků a napadení makovic. Důsledkem nerovnoměrného napadení jednotlivých částí rostlin v rámci parcely bylo pro každou část získáno hned několik hodnot. Pro přehlednost výsledků byly zjištěné hodnoty zpracovány v programu Microsoft Office Excel 2007, kde byl pomocí funkce "součin.skálární"/"suma" vypočítán vážený průměr těchto hodnot. Vážený průměr zohledňuje různou důležitost hodnot v daném statistickém souboru. Pro lepší představu o vlivu biologické ochrany na míru poškození rostlin bylo vypočítáno průměrné napadení rostlin jako celku. V tomto případě se jednalo o průměr aritmetický, neboť listům, stonkům i makovicím byla přisouzena shodná důležitost.

Sklizeň

Sklizeň máku proběhla v době jeho plné zralosti v měsíci srpnu 2012. Ručně sklizené makovice spolu s 10 – 15 cm stonku pod nimi byly následně ponechány vyschnout a experiment byl tímto ukončen.

Významné jevy v období od zasetí po sklizeň

30.4.2012 byla upozorována přítomnost krytonosce kořenového, *Stenocarus ruficornis*, v porostu. 4.5.2012 byl horký jasný den a napadení dosáhlo masivní míry. Došlo k poškození rostlin žírem a řada jich podlehla. Vzhledem k nemožnosti použití insekticidu v pokusu mohli dospělci naklást vajíčka a larvy následně poškodit kořeny zbývajících rostlin. Přeživší rostliny se tak staly náchylnější k houbovým chorobám.

4.2 Fytochemická analýza

4.2.1 Izolace alkaloidů

Příprava materiálu pro extrakci

Po vyschnutí byly stonky odděleny od makovic, makovice rozřezány a zbaveny veškerých semen. S materiálem z každé parcely se pracovalo jako se samostatným vzorkem. Makovice a stonky byly zpracovávány odděleně. Vzniklo tedy celkem 48 vzorků (24 vzorků makovic a 24 vzorků stonků), z toho 12 vzorků makovic (odrůd Orfeus a OP-P-13) zpracovala Linda Röslerová. Suché rostlinné části byly rozemlety elektrickým mlýnkem na velikost částic přibližně 1 – 2 mm.

Vlastní extrakce

Rostlinný materiál:

rozemleté makovice, stonky čtyř odrůd máku setého, *Papaver somniferum* L. (Lazur, Orbis, Orfeus, OP-P-13)

Použité chemikálie:

ethanol 96%, denaturovaný metanolem (EtOH)

kyselina chlorovodíková 2%, p.a. (Penta) (HCl)

diethylether, p.a. (Penta) (Et₂O)

uhličitan sodný 10%, p.a. (Lachema) (Na₂CO₃)

ethylacetát, p.a. (Penta) (EtOAc)

síran sodný, bezvodý, p.a. (Penta) (Na₂SO₄)

chloroform, p.a. (Penta) (CHCl₃)

Použité přístroje:

Analytické váhy Kern ABT 120 – 5 DM

Vakuová odparka Heidolph Laborota 4000 efficient, WB eco

Ultrazvuková lázeň Sonorex super 10 P digital, Bandelin

Elektromagnetické míchadlo Heidolph MR 3001 K

Pracovní postup:

V České republice ani v zahraničí dosud neexistuje závazná norma pro stanovení morfinu, případně dalších opiových alkaloidů ve vzorcích makoviny nebo semeni máku (Kabátová et al., 2013).

Alkaloidy byly z drogy izolovány postupem sestaveným Prof. RNDr. Lubomírem Opletalem, CSc.

4,00 g umleté drogy v případě makovic a 2,00 g v případě stonků byly 3 × vařeny s 50 ml 96% EtOH 15 minut na vodní lázni pod zpětným chladičem. Po zchladnutí byla vždy tekutina přefiltrována přes filtrační papír. Nakonec byly spojené filtráty přefiltrovány přes křemelinu ve filtračním tubusu.

Filtrát byl zahuštěn na vakuové odparce do malého zbytku. Vzniklá suspenze byla s 50 ml 2% HCl sonikována v ultrazvukové lázni a po uvolnění usazenin byla kvantitativně převedena do dělicí nálevky pomocí 25 ml nestabilizovaného Et₂O a vytřepána celkem třikrát (s 25 ml Et₂O). Tímto krokem byly odstraněny nežádoucí

látky (silice, tuky aj.). Etherová vrstva nebyla dále používána. 10% uhličitanem sodným byl kyselý vodný extrakt zalkalizován na pH 9 – 10.

Následovalo vytřepávání 3 × 25 ml EtOAc. EtOAc – výtřepky byly spojeny, vysušeny nad malým množstvím (2 – 5 g) bezvodého Na₂SO₄ a přefiltrovány přes filtrační papír. Po odpaření na vakuové odparce téměř dosucha byl vzniklý odparek pomocí minimálního množství CHCl₃ kvantitativně převeden do ampulky a následně zahuštěn na jehle v proudu vzduchu. Všechny ampulky byly umístěny do vakuového exsikátoru.

Takto připravený suchý extrakt bylo možné analyzovat pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie.

Kontrola:

Pro kontrolu bylo ve vodné fázi po posledním vytřepání s EtOAc provedeno skupinové stanovení alkaloidů. Reakce s tetrajodortuťnanem měďným – Mayerovým činidlem (Cu₂[HgI₄]) při pH roztoku 2 – 3 byla negativní, což je důkaz převedení alkaloidů do EtOAc – fáze.

4.2.2 Vysokoúčinná kapalinová chromatografie

Vzorky byly analyzovány metodou vysokoúčinné kapalinové chromatografie na obsah jednotlivých alkaloidů (morfin, kodein, papaverin, thebain a narkotin).

Vysokoúčinná kapalinová chromatografie, High Performance Liquid Chromatography (HPLC) je v současnosti jedna z nejprogresivnějších analytických metodik. Základní kvalitativní charakteristikou je v HPLC retenční (eluční) čas. Důkazem totožnosti je shoda retenčních časů píku látky v analyzovaném vzorku s retenčním časem píku standardu. Kvantitativní charakteristikou v HPLC je plocha (event. výška) chromatografického píku (Klimeš et al., 2011).

Kapalinový chromatograf:

Agilent 1260 infinity HPLC systém

Sestava: Čerpadlo: G1311C

Autosampler: G1329B

UV-VIS detektor: G1365D

Kolona: Merck LiChroCART 250-4 column (Purospher STAR RP-18e, 5µm)

Teplota na koloně: 30 °C

Dávkování do systému: 10 µl, 2 × 2 min sonikace, filtrace přes filtr s póry 0,22 µm

Typ eluce: gradientová

Mobilní fáze: H₂O : NH₄OH, 1000 : 1 v/v (složka A); ACN (složka B)

Průtok mobilní fáze: 1 ml/min

Gradientový režim: v čase 0 – 5 min lineárním gradientem z 5 % na 25 % B, 5 – 7 min:

výdrž na 25 % B, 7 –15 min: lineárním gradientem z 25 % na 45 % B,

15 – 19 min: lineárním gradientem ze 45 % na 95 % B, 19 – 22 min:

95 % B, 22 – 25 min: lineárním gradientem z 95 % na 5 % B, 25 – 28

min: 5 % B

Analytické standardy:

morfin (ČL 2009, Dopln. 2012: morfin-hydrochlorid trihydrát, MW 375,85 = 1 mol)

kodein (ČL 2009, Dopln. 2012: kodein-fosfát hemihydrát, MW 406,37 = 1 mol)

papaverin (ČL 2009, Dopln. 2012: papaverin-hydrochlorid, MW 375,85 = 1 mol)

thebain (izolovaný v laboratoři na Katedře farmaceutické botaniky a ekologie, FaF UK)

narkotin = (*S,R*)-noskapin (Sigma Aldrich, Praha)

Použité chemikálie:

ultračistá voda pro HPLC (H₂O)

hydroxylamin, p.a. (Penta) (NH₄OH)

acetonitril, p.a. (Penta) (ACN)

Každý vzorek byl na HPLC proměřen dvakrát. Stejně tomu bylo i u standardních látek. Standard pro každý z pěti alkaloidů byl proměřen v pěti koncentracích (morfin: 400/200/100/20/4 µg/ml; kodein: 200/100/50/10/2 µg/ml; papaverin, thebain a narkotin: 100/50/25/5/1 µg/ml). Zjištěné hodnoty (retenční časy a plochy píků) z obou nástřiků byly vloženy do statistického programu TriloByte QC.Expert 3.3. Na základě HPLC analýzy standardů mohly být sestaveny kalibrační křivky a následně spočítán obsah jednotlivých alkaloidů ve vzorcích s použitím hladiny významnosti $\alpha = 0,05$ a s přihlédnutím k udaným mezím detekce (LOD – limit of detection) a mezím stanovitelnosti (LOQ – limit of quantification) pro jednotlivé alkaloidy.

4.2.3 Tenkovrstvá chromatografie

Pro kontrolu kvalitativních výsledků HPLC analýzy byla provedena tenkovrstvá chromatografie vzorku makovic a vzorku stonků, ve kterých byla ověřována přítomnost alkaloidu papaverinu. Konkrétně se jednalo o vzorek odrůdy OP-P-13 z neošetřené kontrolní parcely.

Velkou předností tenkovrstvé chromatografie, Thin Layer Chromatography (TLC) je jednoduchost provedení analýzy a dostupnost příslušného laboratorního vybavení. Na start TLC chromatogramu se vedle sebe nanáší roztok analyzovaného vzorku a roztok vzorku ověřeného standardu. Hlavní kvalitativní charakteristikou v TLC je shoda retenčních faktorů skvrny dokazované látky a skvrny standardu. Další charakteristikou je shodné zbarvení skvrn v případě detekce postřikem činidly (Klimeš et al., 2011).

Chromatografické podmínky:

Stacionární fáze: Kieselgel 60 F₂₅₄, Merck (TLC hliníkové fólie, Silikagel 60 F₂₅₄, tloušťka vrstvy 0,2 mm)

Vyvíjecí soustava: C₆H₅CH₃ : AcCH₃ : NH₄OH : EtOH (45 : 45 : 3 : 7 v/v)

Detekce: a) UV lampou 254 nm

b) postřikem jodobizmutitanem draselným – Dragendorffovo činidlo (K[BiI₄])

Použité chemikálie:

toluen, p.a. (Penta) (C₆H₅CH₃)

aceton, p.a. (Penta) (AcCH₃)

hydroxylamin, p.a. (Penta) (NH₄OH)

ethanol 96%, denaturovaný metanolem (EtOH)

Pomůcky:

Skleněné kapiláry 1 – 5 µl

Přístroje:

UV lampa Camag

Jako důkaz papaverinu slouží shoda hodnot retenčních faktorů vzorku a standardu a oranžové až oranžovočervené zbarvení po postřiku chromatogramu Dragendorffovým činidlem.

5 VÝSLEDKY

Jak již bylo uvedeno v experimentální části, výsledky HPLC analýzy byly zpracovány ve statistickém programu TriloByte QC.Expert 3.3. a následně v programu Microsoft Office Excel 2007, kde byly zpracovány i výsledky hodnocení napadení rostlin.

5.1 Napadení rostlin helmintosporiózou a plísní makovou

Výsledky hodnocení napadení rostlin jsou uvedeny v tabulkách 8 – 11. Vliv agrotechnik a biologické ochrany rostlin na produkci sekundárních metabolitů *Papaver somniferum* L. v makovicích odrůd Orfeus a OP-P-13 byl předmětem zkoumání Lindy Röslerové. Protože byly ale stonky těchto odrůd hodnoceny mnou, zabývala jsem se v této práci zhodnocením napadení všech čtyř odrůd včetně odrůd Orfeus a OP-P-13.

Tab. 8: Napadení rostlin odrůdy LAZUR helmintosporiózou a plísní makovou na jednotlivých parcelách (1 – 3) a celkem za všechny ošetřené/neošetřené parcely.

Odrůda LAZUR		Helmintosporióza [%]		Plíseň maková [%]	
		Ošetřené	Neošetřené	Ošetřené	Neošetřené
Listy	1	54	44,55	0	0
	2	34,75	27,5	24	0,05
	3	41,5	26,25	0	32
	Celkem	43,42	32,77	8	10,68
Stonky	1	8,5	20,4	0	0
	2	8,5	5	24	0,05
	3	5	5	0	32
	Celkem	7,33	10,13	8	10,68
Tobolky	1	31,25	39	0	0
	2	43	35	24	0,05
	3	38,25	20,5	0	32
	Celkem	37,5	31,5	8	10,68
Celé rostliny		29,42	24,8	8	10,68

Tab. 9: Napadení rostlin odrůdy ORBIS helmintosporiózou a plísní makovou na jednotlivých parcelách (1 – 3) a celkem za všechny ošetřené/neošetřené parcely.

Odrůda ORBIS		Helmintosporióza [%]		Plíseň maková [%]	
		Ošetřené	Neošetřené	Ošetřené	Neošetřené
Listy	1	36,5	75	0	0
	2	40	75	0	0
	3	75	64,5	0	0
	Celkem	50,5	71,5	0	0
Stonky	1	1	5	0	0
	2	40	5	0	0
	3	40	5	0	0
	Celkem	27	5	0	0
Tobolky	1	3,75	45,5	0	0
	2	5	16	0	0
	3	45,6	28,75	0	0
	Celkem	18,1	30,1	0	0
Celé rostliny		31,87	35,53	0	0

Tab. 10: Napadení rostlin odrůdy ORFEUS helmintosporiózou a plísní makovou na jednotlivých parcelách (1 – 3) a celkem za všechny ošetřené/neošetřené parcely.

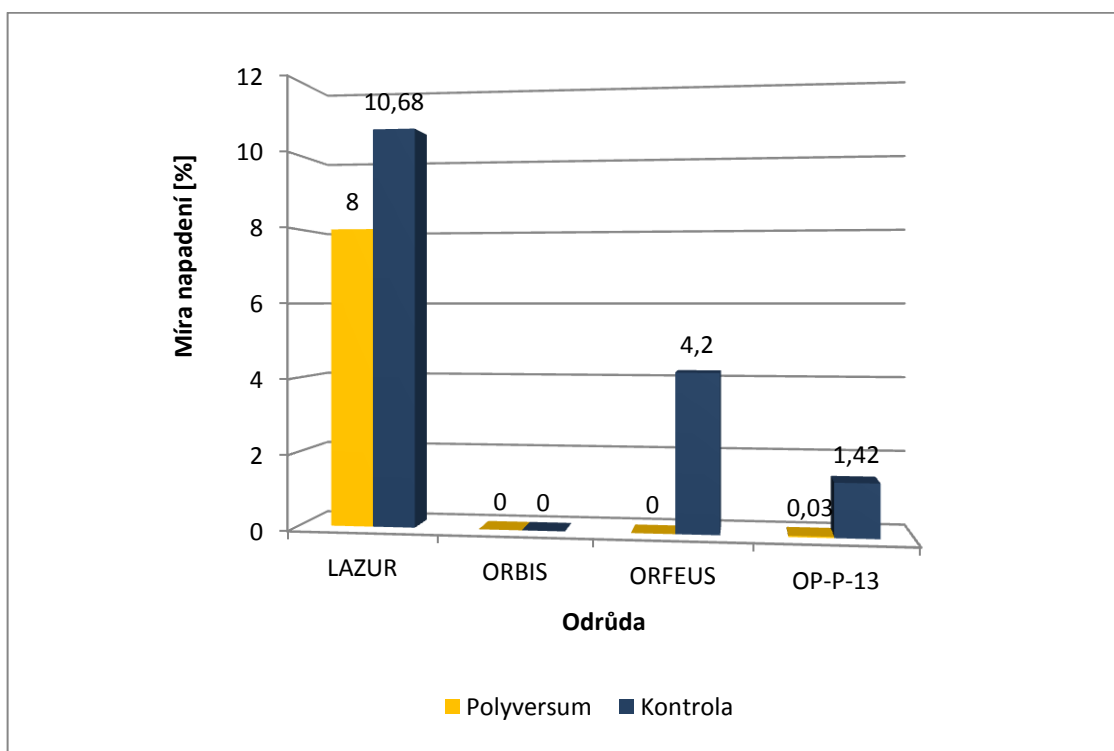
Odrůda ORFEUS		Helmintosporióza [%]		Plíseň maková [%]	
		Ošetřené	Neošetřené	Ošetřené	Neošetřené
Listy	1	68	44,25	0	12,5
	2	40	58,5	0	0,1
	3	19	65,2	0	0
	Celkem	42,3	56	0	4,2
Stonky	1	5	15,5	0	12,5
	2	4	5	0	0,1
	3	4,75	6,4	0	0
	Celkem	4,58	8,97	0	4,2
Tobolky	1	33	25,25	0	12,5
	2	19	26	0	0,1
	3	32,95	11,25	0	0
	Celkem	28,3	20,8	0	4,2
Celé rostliny		25,06	28,59	0	4,2

Tab. 11: Napadení rostlin odrůdy OP-P-13 helmintosporiózou a plísní makovou na jednotlivých parcelách (1 – 3) a celkem za všechny ošetřené/neošetřené parcely.

Odrůda OP-P-13		Helmintosporióza [%]		Plíseň maková [%]	
		Ošetřené	Neošetřené	Ošetřené	Neošetřené
Listy	1	68	42,8	0	0,5
	2	70,1	69,5	0	3,75
	3	64,5	57,5	0,1	0
	Celkem	67,53	56,6	0,03	1,42
Stonky	1	5	1	0	0,5
	2	7,1	12	0	3,75
	3	5	5	0,1	0
	Celkem	5,7	6	0,03	1,42
Tobolky	1	42	31,6	0	0,5
	2	28,25	20,5	0	3,75
	3	21,25	17,5	0,1	0
	Celkem	30,5	23,2	0,03	1,42
Celé rostliny		34,58	28,6	0,03	1,42

Pokud došlo k poškození rostlin vlivem plísně makové, byly všechny tři části (listy, stonky, tobolky) poškozeny stejnou měrou. U odrůd Lazur a OP-P-13 byly ošetřené rostliny oproti neošetřené kontrole poškozeny méně. U odrůdy Orfeus nebyly ošetřené rostliny oproti neošetřeným napadeny vůbec. Odrůda Orbis odolala plísní makové dokonce na všech parcelách. Nejvíce poškození plísní makovou jak na neošetřených, tak na ošetřených parcelách utrpěla odrůda Lazur. Tyto skutečnosti jsou znázorněny v grafu 1.

Graf 1: Průměrné napadení rostlin plísní makovou



Nutno poznamenat, že parcely, na kterých byl zaznamenán výskyt plísně makové, se nacházely na okraji pozemku vymezeného pro experiment. Ze středových parcel nebyla napadena ani jedna, jak znázorňuje tabulka 12.

Tab. 12: Schéma rozvržení pokusu (rozmístění odrůd na parcelách) s vyznačením výskytu plísně makové

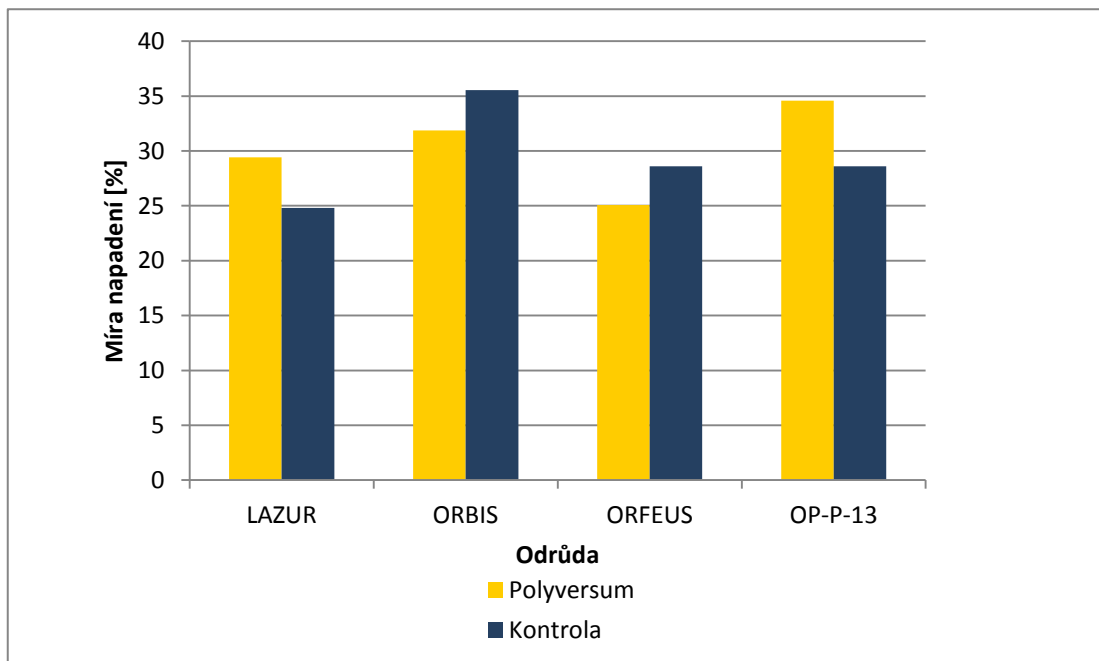
Orfeus	OP-P-13	Orfeus	OP-P-13
Lazur	Orbis	Lazur	Orbis
Orfeus	OP-P-13	Orbis	Lazur
Lazur	Orbis	OP-P-13	Orfeus
OP-P-13	Orfeus	Lazur	OP-P-13
Orbis	Lazur	Orbis	Orfeus

Vysvětlivky: ošetřené
plíseň maková

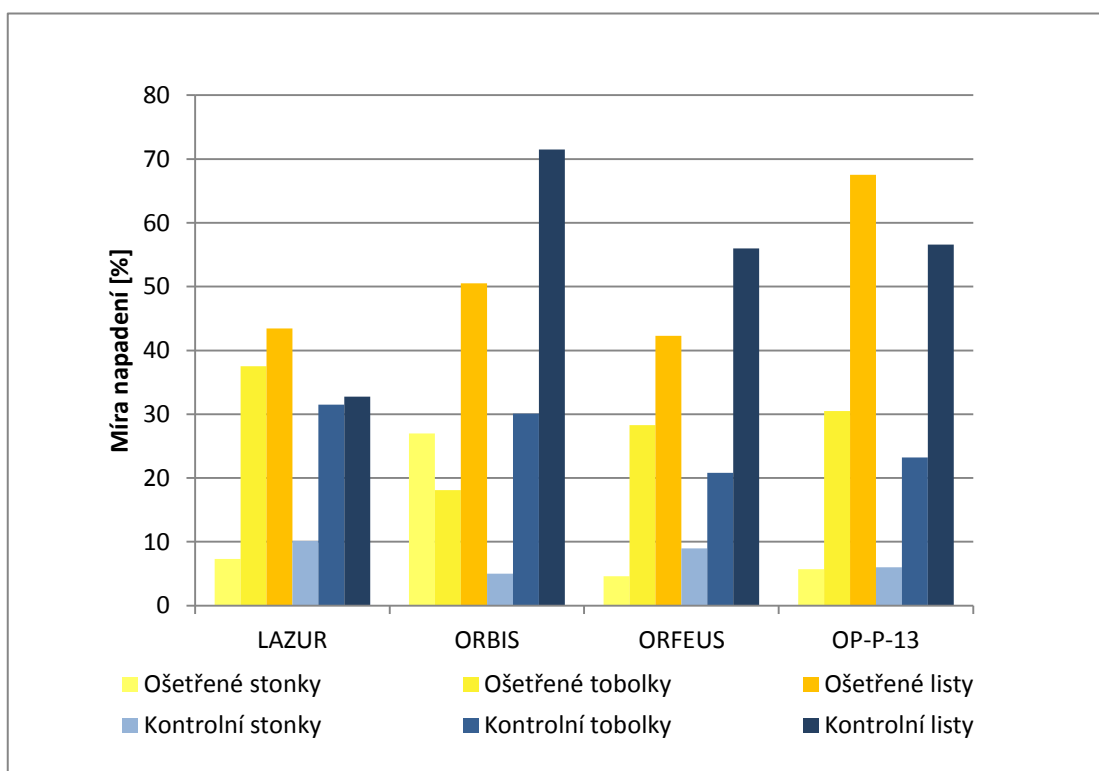
Napadení helmintosporiózou v rámci jednotlivých parcel bylo značně nerovnoměrné. V některých případech byly ošetřené parcely napadeny méně, v některých naopak více. Z průměrných výsledků vyplývá, že ošetření pomohlo odrůdám odolnějším proti houbovým chorobám – Orbis a Orfeus. I přesto byly ošetřené rostliny odrůdy Orbis na třetím místě v žebříčku napadení. Hůře dopadly pouze ošetřené OP-P-13 a nejhůře neošetřené Orbis parcely. V případě náchylných

odrůd (Lazur a OP-P-13) mělo ošetření spíše negativní dopad (graf 2). S určitostí lze pouze říci, že helmintosporiózou byly vždy, vyjma jediného případu, poškozeny nejvíce listy a nejméně stonky rostlin. Jedinou výjimkou byly ošetřené parcely odrůdy Orbis, kde byly stonky poškozeny více než tobolky (graf 3).

Graf 2: Průměrné napadení rostlin helmintosporiózou



Graf 3: Průměrné napadení jednotlivých částí rostlin helmintosporiózou



5.2 Fytochemická analýza

5.2.1 HPLC analýza

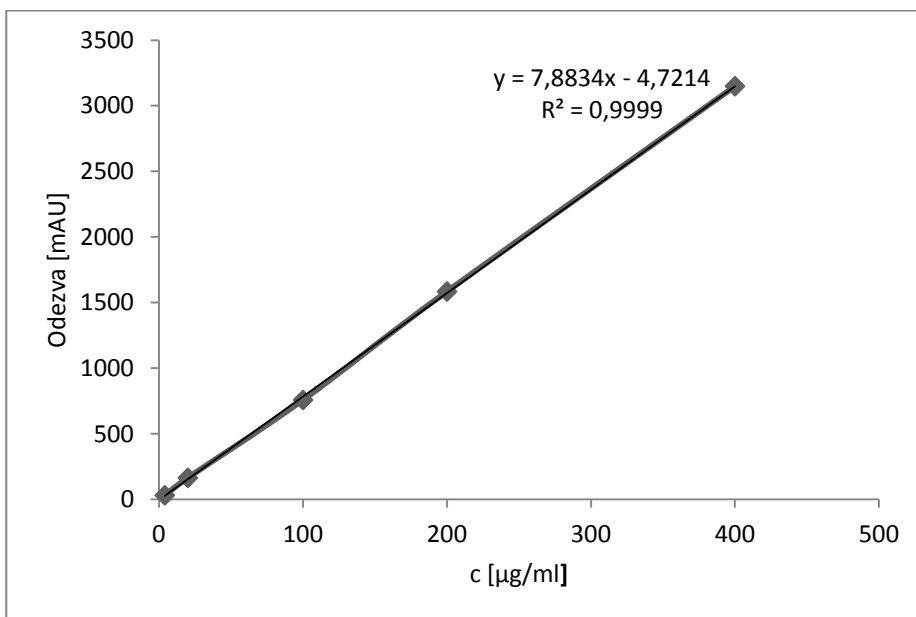
Fytochemická analýza obsahu alkaloidů v makovicích odrůd Orfeus a OP-P-13 byla náplní práce Lindy Röslerové. Proto zde zjištěné hodnoty nejsou uvedeny. Bez jejich znalosti by však nebylo možné dopočítat procentuální obsah alkaloidů v makovině těchto odrůd.

V tabulce 13 jsou uvedeny průměrné retenční časy standardů analyzovaných alkaloidů se směrodatnou odchylkou. Jako příklad je uvedena kalibrační křivka majoritního alkaloidu morfinu (graf 4) a obrázky 25, 26 znázorňují ukázky reálných HPLC chromatogramů.

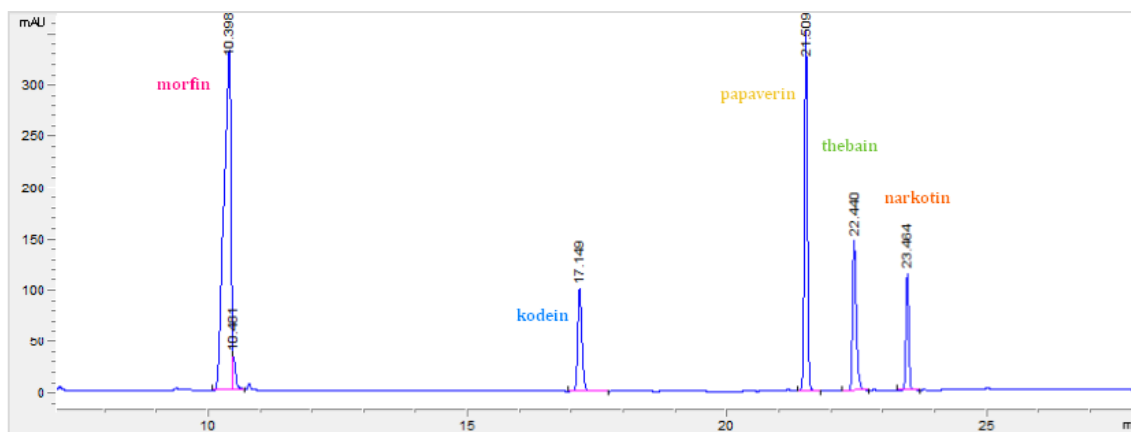
Tab. 13: Průměrné retenční časy standardů jednotlivých alkaloidů

Alkaloid	Retenční čas t_R [min]
MORFIN	$10,19 \pm 0,13$
KODEIN	$17,18 \pm 0,02$
PAPAVÉRIN	$21,52 \pm 0,01$
THEBAIN	$22,48 \pm 0,03$
NARKOTIN	$23,47 \pm 0,01$

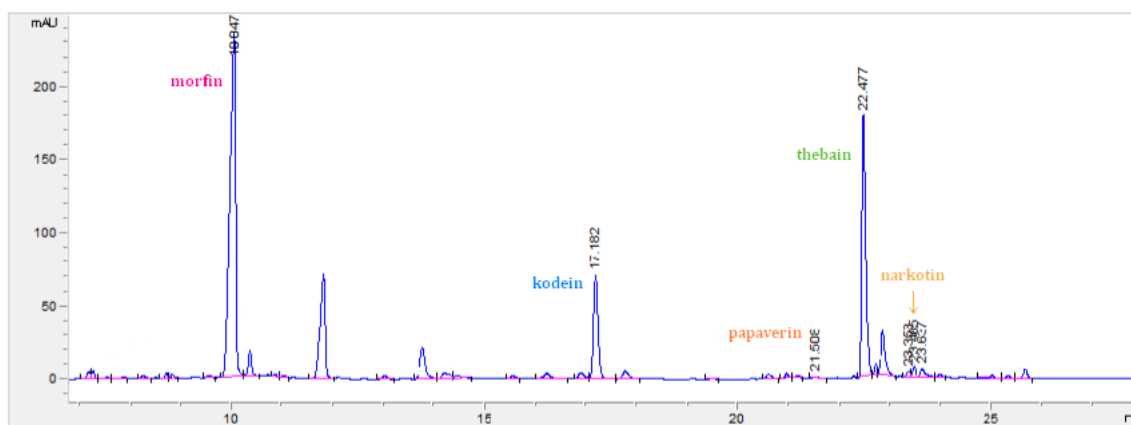
Graf 4: Kalibrační křivka morfinu



Obr. 25: Chromatogram standardních roztoků alkaloidů o koncentraci 400 (morfin), 200 (kodein) a 100 (papaverin, thebain, narkotin) µg/ml



Obr. 26: Chromatogram reálného vzorku



Následující tabulky (tab. 14 – 17) shrnují výsledky HPLC analýzy. Ty vyjadřují obsah majoritních alkaloidů v extraktech z makovic a stonků (µg/ml). Pro porovnatelnost s literárními zdroji je uvedeno také procentuální zastoupení jednotlivých složek v sušině makovic, stonků a v makovině (tab. 18 – 21).

Stonky z jedné ošetřené parcely odrůdy Orbis nebyly analyzovány, jelikož nebylo možné získat reprezentativní vzorek. To bylo způsobeno silným napadením houbovými chorobami máku.

Vysvětlivky k tabulkám 14 – 21: < LOD: pod mezí detekce; < LOQ: pod mezí stanovitelnosti; N: nelze dopočítat.

Tab. 14: Obsah alkaloidů v extraktu z makovic (M) a stonků (S) odrůdy Lazur [µg/ml]

LAZUR		Ošetřené			Neošetřené		
		1	2	3	1	2	3
Morfin	M	353,26	230,61	327,66	146,65	215,38	303,07
	S	222,74	209,47	270,23	95,26	254,92	282,96
Kodein	M	64,61	77,37	38,29	161,20	124,56	66,44
	S	71,30	100,91	59,71	70,05	72,59	82,06
Papaverin	M	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
	S	< LOD	< LOQ	< LOD	< LOQ	0,95	< LOD
Thebain	M	27,14	26,18	15,24	104,26	52,52	17,59
	S	60,65	44,28	27,52	69,94	19,64	19,18
Narkotin	M	22,37	51,27	35,26	31,04	49,54	50,15
	S	23,72	15,28	27,33	5,04	18,90	19,07

Tab. 15: Obsah alkaloidů v extraktu z makovic (M) a stonků (S) odrůdy Orbis [µg/ml]

ORBIS		Ošetřené			Neošetřené		
		1	2	3	1	2	3
Morfin	M	328,65	330,89	390,65	233,07	490,49	308,16
	S	121,47	neměřeno	143,63	118,62	136,45	119,06
Kodein	M	79,42	74,03	90,38	146,17	74,90	116,75
	S	52,07	neměřeno	71,29	73,32	71,54	43,73
Papaverin	M	< LOD	< LOD	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOD
	S	< LOQ	neměřeno	0,89	0,81	< LOD	< LOQ
Thebain	M	62,04	69,61	79,37	126,03	63,42	117,68
	S	108,11	neměřeno	96,89	94,12	96,71	48,02
Narkotin	M	2,80	< LOD	3,79	6,42	5,12	5,56
	S	1,57	neměřeno	4,49	< LOD	< LOQ	3,92

Tab. 16: Obsah alkaloidů v extraktu ze stonků odrůdy Orfeus [μg/ml]

ORFEUS	Ošetřené			Neošetřené		
	1	2	3	1	2	3
Morfin	90,60	108,11	122,26	110,18	130,49	153,37
Kodein	61,25	49,99	42,56	54,33	38,63	33,77
Papaverin	< LOQ	< LOQ	< LOD	< LOQ	< LOQ	0,90
Thebain	46,80	86,96	34,14	34,55	19,77	38,27
Narkotin	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD

Tab. 17: Obsah alkaloidů v extraktu ze stonků odrůdy OP-P-13 [μg/ml]

OP-P-13	Ošetřené			Neošetřené		
	1	2	3	1	2	3
Morfin	132,06	120,41	160,63	136,66	78,78	138,17
Kodein	37,98	49,21	50,89	44,47	34,65	61,93
Papaverin	< LOD	< LOD	< LOQ	< LOD	7,08	< LOQ
Thebain	20,36	45,23	33,48	13,42	39,43	55,50
Narkotin	16,63	13,64	20,06	10,34	15,59	15,38

Tab. 18: Obsah alkaloidů v makovicích, stonkách a makovině odrůdy Lazur [%]

LAZUR		Ošetřené			Neošetřené		
		1	2	3	1	2	3
Morfin	Makovice	0,35	0,17	0,27	0,19	0,22	0,26
	Stonky	0,07	0,05	0,09	0,02	0,08	0,09
	Makovina	0,31	0,15	0,24	0,16	0,20	0,23
Kodein	Makovice	0,06	0,06	0,03	0,21	0,13	0,06
	Stonky	0,02	0,03	0,02	0,01	0,02	0,03
	Makovina	0,06	0,05	0,03	0,18	0,11	0,05
Papaverin	Makovice	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
	Stonky	< LOD	< LOQ	< LOD	< LOQ	0	< LOD
	Makovina	N	N	N	N	0	N
Thebain	Makovice	0,03	0,02	0,01	0,14	0,05	0,01
	Stonky	0,02	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
	Makovina	0,03	0,02	0,01	0,12	0,05	0,01
Narkotin	Makovice	0,02	0,04	0,03	0,04	0,05	0,04
	Stonky	0,01	0	0,01	0	0,01	0,01
	Makovina	0,02	0,03	0,03	0,03	0,04	0,04

Tab. 19: Obsah alkaloidů v makovicích, stoncích a makovině odrůdy Orbis [%]

ORBIS		Ošetřené			Neošetřené		
		1	2	3	1	2	3
Morfin	Makovice	0,27	0,20	0,30	0,22	0,36	0,26
	Stonky	0,04	neměřeno	0,03	0,02	0,03	0,03
	Makovina	0,23	N	0,25	0,18	0,30	0,22
Kodein	Makovice	0,06	0,05	0,07	0,14	0,05	0,10
	Stonky	0,02	neměřeno	0,02	0,01	0,02	0,01
	Makovina	0,06	N	0,06	0,12	0,05	0,08
Papaverin	Makovice	< LOD	< LOD	< LOQ	< LOQ	< LOQ	< LOD
	Stonky	< LOQ	neměřeno	0	0	< LOD	< LOQ
	Makovina	N	N	0	0	N	N
Thebain	Makovice	0,05	0,04	0,06	0,12	0,05	0,10
	Stonky	0,03	neměřeno	0,02	0,02	0,02	0,01
	Makovina	0,05	N	0,05	0,10	0,04	0,08
Narkotin	Makovice	0	< LOD	0	0,01	0	0
	Stonky	0	neměřeno	0	< LOD	< LOQ	0
	Makovina	0	N	0	0,01	0	0

Tab. 20: Obsah alkaloidů v makovicích, stoncích a makovině odrůdy Orfeus [%]

ORFEUS		Ošetřené			Neošetřené		
		1	2	3	1	2	3
Morfin	Stonky	0,02	0,03	0,02	0,02	0,03	0,04
	Makovina	0,28	0,28	0,27	0,28	0,28	0,25
Kodein	Stonky	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
	Makovina	0,05	0,08	0,07	0,06	0,04	0,04
Papaverin	Stonky	< LOQ	< LOQ	< LOD	< LOQ	< LOQ	0
	Makovina	N	N	N	N	N	0
Thebain	Stonky	0,01	0,02	0,01	0,01	0	0,01
	Makovina	0,11	0,10	0,05	0,13	0,04	0,08
Narkotin	Stonky	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD
	Makovina	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD	< LOD

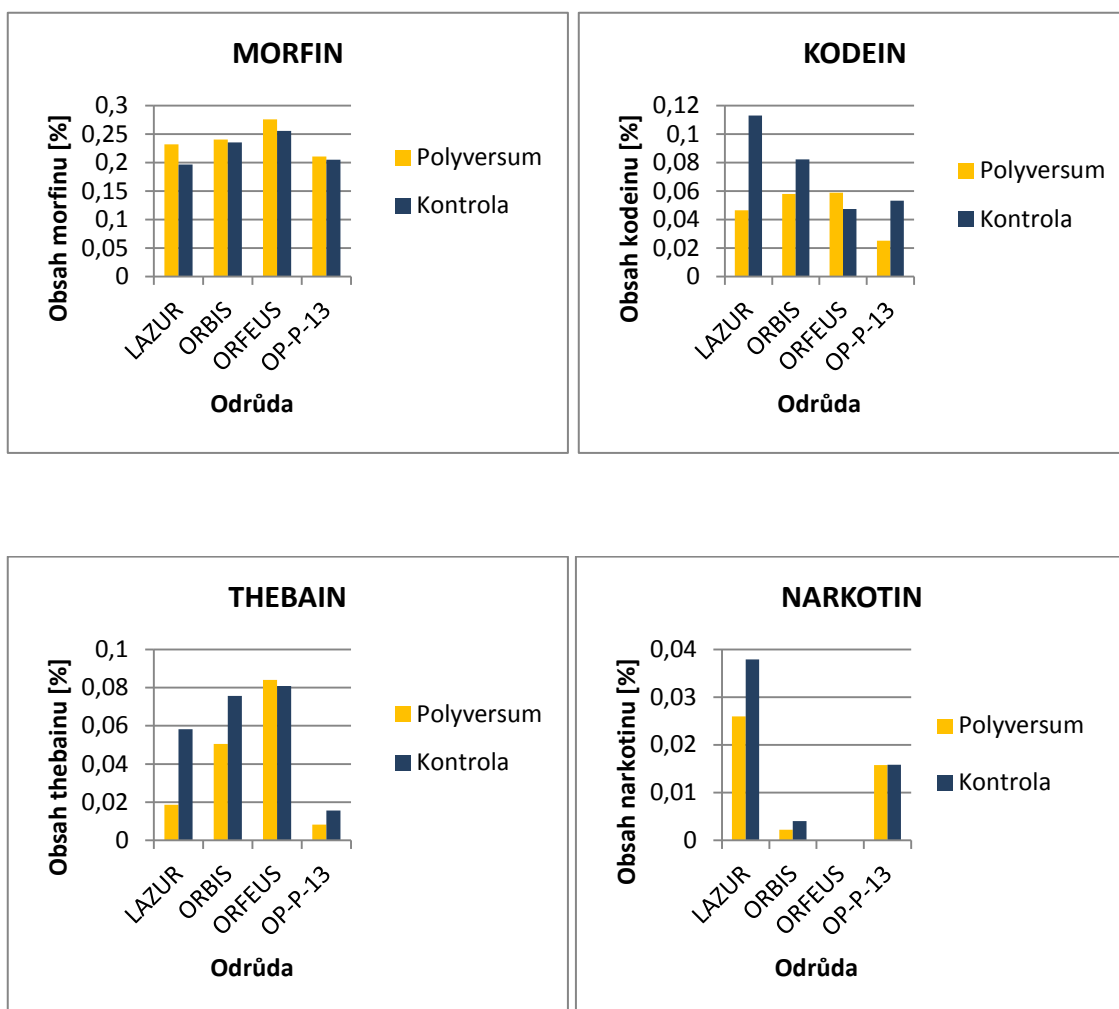
Tab. 21: Obsah alkaloidů v makovicích, stoncích a makovině odrůdy OP-P-13 [%]

OP-P-13		Ošetřené			Neošetřené		
		1	2	3	1	2	3
Morfin	Stonky	0,03	0,03	0,05	0,02	0,02	0,03
	Makovina	0,20	0,17	0,26	0,11	0,27	0,23
Kodein	Stonky	0,01	0,01	0,02	0,01	0,02	0,02
	Makovina	0,05	0,01	0,02	0,02	0,08	0,07
Papaverin	Stonky	< LOD	< LOD	< LOQ	< LOD	0	< LOQ
	Makovina	N	N	N	N	0,01	N
Thebain	Stonky	0	0,01	0,01	0	0,01	0,01
	Makovina	0,02	0	0	0,01	0,01	0,03
Narkotin	Stonky	0	0	0	0	0	0
	Makovina	0,02	0,01	0,02	0,02	0,02	0,01

Z výsledků vyplývá, že alkaloid papaverin nebyl v makovině námi sledovaných odrůd obsažen, resp. jeho obsah v makovině byl nižší než mez detekce či mez stanovitelnosti. Pouze u několika málo vzorků se koncentrace papaverinu vyšplhala nad LOQ (většinou v extraktu ze stonků). Přesto tyto hodnoty nedosáhly ani desítky µg/ml.

Obsah alkaloidů v rámci jedné odrůdy byl na jednotlivých parcelách značně nerovnoměrný, bez zjevné závislosti na ošetření. Průměrné hodnoty z ošetřených/neošetřených parcel ukazují, že ošetření mělo pozitivní dopad na obsah morfinu u všech odrůd, na obsah kodeinu a thebainu pouze u odrůdy Orfeus. U ostatních alkaloidů a odrůd ošetření ovlivnilo koncentrace spíše negativně, přičemž tento negativní vliv je znatelnější než vliv pozitivní. Odrůda OP-P-13 obsahovala na neošetřených parcelách o necelou tisícinu procenta narkotinu více než na parcelách ošetřených. Nejvyšší koncentrace morfinu dosáhla odrůda Orfeus ošetřená, kodeinu Lazur neošetřená, thebainu Orfeus ošetřená a narkotinu Lazur neošetřená (grafy 5 – 8).

Grafy 5, 6, 7, 8: Průměrný obsah jednotlivých alkaloidů v makovině



Co se helmintosporií týče, zdá se, že obsah morfinu v makovině nezáleží vždy na míře napadení. Na některých parcelách s nejtěžším napadením nebyl pozorován úbytek morfinu ve srovnání s ostatními parcelami.

Podíváme-li se však na schéma pokusu (tab. 22), vidíme, že nízký obsah morfinu (0,20 % v makovině a méně) byl zjištěn u odrůdy Lazur napadené plísní (ošetřené i neošetřené). Odrůdu Lazur, která patří mezi náchylnější, postihla plíseň maková nejzávažnější měrou. Dále byl nízký obsah morfinu naměřen na jedné z neošetřených parcel odrůdy OP-P-13, která byla taktéž napadena plísní, ovšem v daleko menší míře. Tento fakt mohl být zapříčiněn tím, že je odrůda OP-P-13 podle Vrbovského (2012) z námi sledovaných odrůd nejméně obsažná.

Odrůda Orfeus nevykázala žádný extrémní výkyv v obsahu morfinu. Podle charakteristiky odrůd poskytnuté Výzkumným ústavem olejnin v Opavě (VÚOO)

(Vrbovský, 2012) dosahuje Orfeus vyšších koncentrací morfinu v makovině a je také odolnější proti houbovým chorobám než odrůda OP-P-13.

Parcela odrůdy Lazur nenapadená plísní a přesto s nízkým obsahem morfinu, patří spolu s vedlejší parcelou odrůdy Orbis (také s nízkým obsahem morfinu) k místu ohniskového výskytu krytonosce kořenového v porostu (tab. 22). Ten svým žírem na vzcházejících rostlinkách způsobil téměř úplné zdecimování porostu na těchto parcelách (obr. 27).

Tab. 22: Schéma rozvržení pokusu (rozmístění odrůd na parcelách) s vyznačením výskytu krytonosce kořenového, plísně makové, helmintosporiízy a výkyvů v obsahu morfinu

Orfeus	OP-P-13	Orfeus	OP-P-13	ošetřené plíseň maková vysoký obsah morfinu nízký obsah morfinu helmintosporiíza krytonosec kořenový
Lazur	Orbis	Lazur	Orbis	
Orfeus	OP-P-13	Orbis	Lazur	
Lazur	Orbis	OP-P-13	Orfeus	
OP-P-13	Orfeus	Lazur	OP-P-13	
Orbis	Lazur	Orbis	Orfeus	

Tab. 23: Průměrné napadení rostlin helmintosporiízou na jednotlivých parcelách [%]

Odrůda	Ošetřené			Neošetřené		
	1	2	3	1	2	3
Lazur	31,25	28,75	28,25	34,65	22,5	17,25
Orbis	13,75	28,33	53,53	41,83	32	32,75
Orfeus	35,33	21	18,9	28,33	29,83	7,62
OP-P-13	38,33	35,15	30,25	25,13	34	26,67

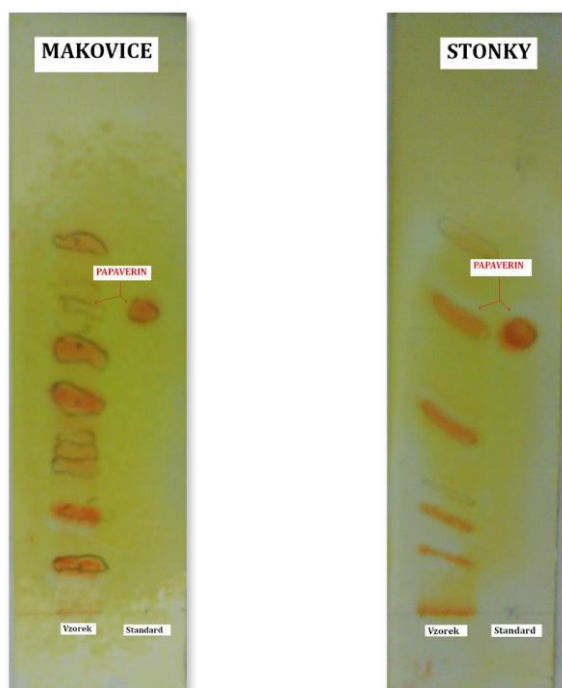
Obr. 27: Ohnisko výskytu krytonosce kořenového



5.2.2 Kontrolní TLC

Přestože HPLC papaverin téměř nezaznamenala, na kontrolních TLC chromatogramech jednoho ze vzorků byla zachycena zřetelná skvrna papaverinu v extraktu ze stonků a slabá skvrnka papaverinu obsaženého v makovicích (obr. 28, 29). Tenkovrstvá chromatografie se tedy v tomto případě jevila citlivější.

Obr. 28, 29: Kontrolní TLC chromatogramy neošetřených vzorků OP-P-13



6 DISKUSE

V poslední době, kdy nároky farmaceutického průmyslu na obsažnost makoviny rostou, jsou každoročně zakládány pokusy s rozličnými odrůdami máku setého, *Papaver somniferum* L. Ty jsou pak především analyzovány na obsah majoritních alkaloidů. Je snaha pěstovat, případně vyšlechtit odrůdu s co nejvyšším obsahem alkaloidů při zachování dobrých sensorických vlastností semene. V experimentech je uplatňována různá agrotechnika, ochrana rostlin, sklizňové a posklizňové technologie s cílem nalézt ty optimální.

Těmito pokusy se u nás zabývá hned několik institucí. Jsou to například Výzkumný ústav olejnin Opava, Česká zemědělská univerzita v Praze, Ústřední kontrolní a zkušební ústav zemědělský, sdružení Český mák a naším pokusem z roku 2012 v Zahradě léčivých rostlin (ZLR) sem můžeme zařadit i Farmaceutickou fakultu Univerzity Karlovy. Výsledky pokusů jsou prezentovány na každoročně svolávaných rozsáhlých konferencích a odborných seminářích.

Dosud zakládané pokusy však fungovaly v konvenčním režimu pěstování. Rostliny byly regulovány, stimulovány, pozemky hnojeny a pesticidně ošetřovány. Záměrem našeho experimentu bylo ověřit, zda je možné stejných výsledků, myšleno produkce sekundárních metabolitů, dosáhnout v přirozených půdních podmínkách s využitím čistě biologické ochrany rostlin. Z tohoto pohledu se dá naše práce považovat za studii pilotní, a jelikož byla pouze jednoletá, není možné námi získané závěry plnohodnotně porovnat s dostupnými výsledky ostatních pokusů s *Papaver somniferum* L.

Pokus s ekologicky pěstovaným mákem byl založen v roce 2006 na ekologické farmě v Budyni nad Ohří. Sledovaným záměrem byl ovšem vliv biologické ochrany na výnos semene, a to u odrůd Opál a Major (Kuchtová et al., 2007). Na stejné farmě byl v roce 2009 založen další pokus, který byl součástí širší studie s cílem ověřit účinnost různých způsobů ošetření osiva na ekologických a konvenčních pěstitelských plochách (Hájková et al., 2011). Pěstitelé se na ekologických plochách potýkali s výskytem krytonosce kořenového na máku, který byl zaznamenán i v našem porostu.

V ekologickém zemědělství je povolen fungicidní přípravek Polyversum s účinným organismem *Pythium oligandrum*, který byl registrován do máku v roce 2008

a jeho registrace je platná do 31.12.2015 (KEZ, 2012). Právě tento přípravek byl v našem experimentu použit jako jediná ochrana rostlin. V roce 2009 byl v kombinaci s chemickými přípravky v máku zkoušen i biofungicidní přípravek Supresivit (spory *Trichoderma harzianum*) (Kuchtová et al., 2009). Ten však nebyl registrován do máku a jeho registrace vypršela dnem 14.1.2010 (KEZ, 2012). Proti krytonosci kořenovému ekologický systém zatím nedisponuje účinnou ochranou (Hájková et al., 2011).

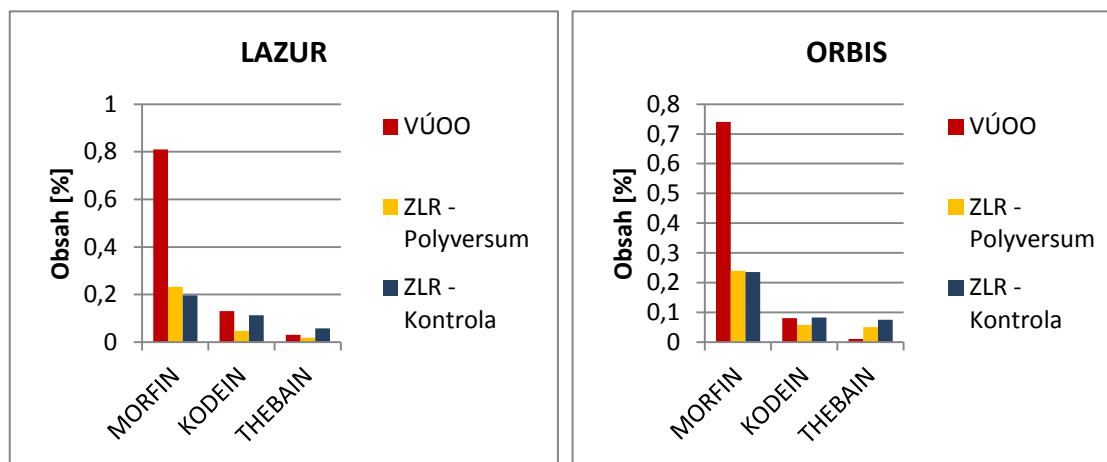
Naproti tomu v konvenčním režimu je dostupných hned několik přípravků. Např. insekticidně-fungicidní přípravek Cruiser OSR (metalaxyl-M, fludioxonyl, thiamethoxam) na moření osiva, Nurelle D (cypermethrin, chlorpyrifos) proti krytonosci kořenovému a mšicím, Rapid (gamma-cyhalothrin) a další. V konvenci je možné použít také herbicidy, jako jsou např. Callisto 480 SC (mesotrion) nebo Laudis (tembotrion, isoxadifen-ethyl) a z fungicidních přípravků nejčastěji Caramba (metconazol) a Discus (kresoxim-methyl) (Kosek, 2006;

http://sdruzeni.ceskmak.cz/pripravky_na_ochranu_rostlin;

<http://www.agromanual.cz/cz/pripravky>).

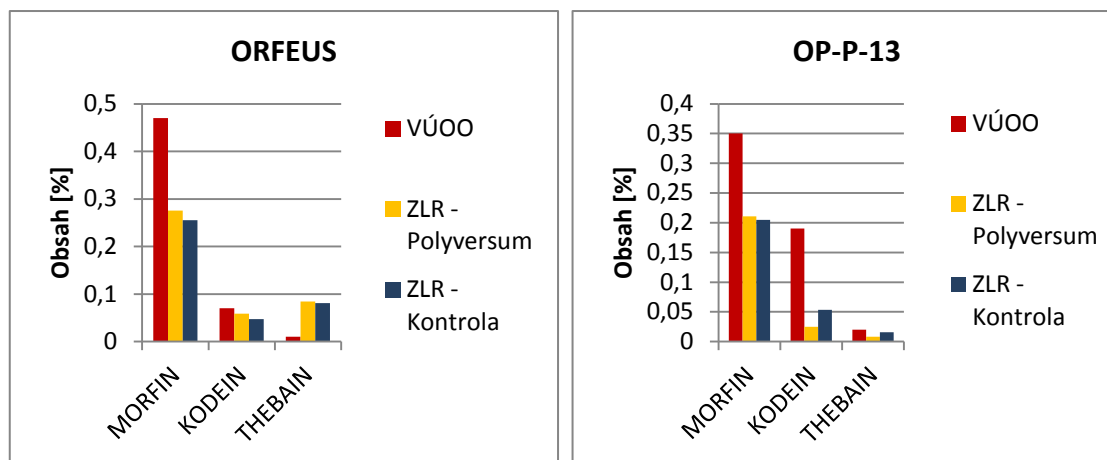
Pro získání představ o dosahovaných výnosech námi sledovaných odrůd je zde přeci jen uvedeno srovnání výsledků z našeho pokusu s pokusem provedeným VÚOO, který má v tomto směru dlouhodobé zkušenosti (grafy 9 – 12). Čtenář by měl vzít ovšem v potaz, že tyto pokusy byly realizovány za zcela odlišných klimatických i půdních podmínek, v jiné době a na jiném místě.

Grafy 9, 10: Průměrný obsah alkaloidů v makovině odrůd Lazur a Orbis v porovnání s VÚOO [%]



(Zdroj dat za VÚOO: Vrbovský, 2013)

Grafy 11, 12: Průměrný obsah alkaloidů v makovině odrůd Orfeus a OP-P-13 v porovnání s VÚOO [%]



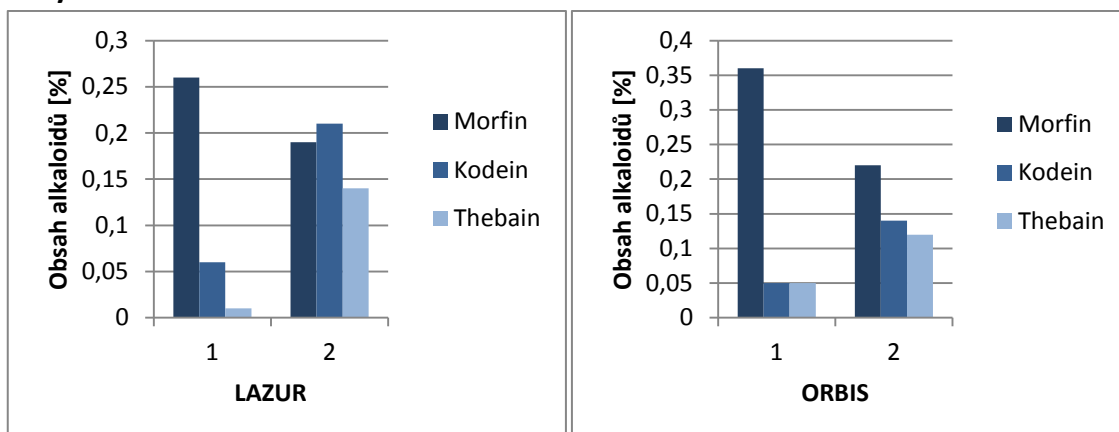
(Zdroj dat za VÚOO: Vrbovský, 2013)

Takové koncentrace morfinu jako u VÚOO odrůdy v našem pokusu nedosahovaly. I obsah kodeinu byl nižší. Jen u neošetřené varianty odrůdy Orbis bylo dosaženo srovnatelné hodnoty. Naopak obsah thebainu se mimo odrůdy OP-P-13 často vyšplhal k hodnotám až několikanásobně vyšším, než jaké naměřili ve VÚOO.

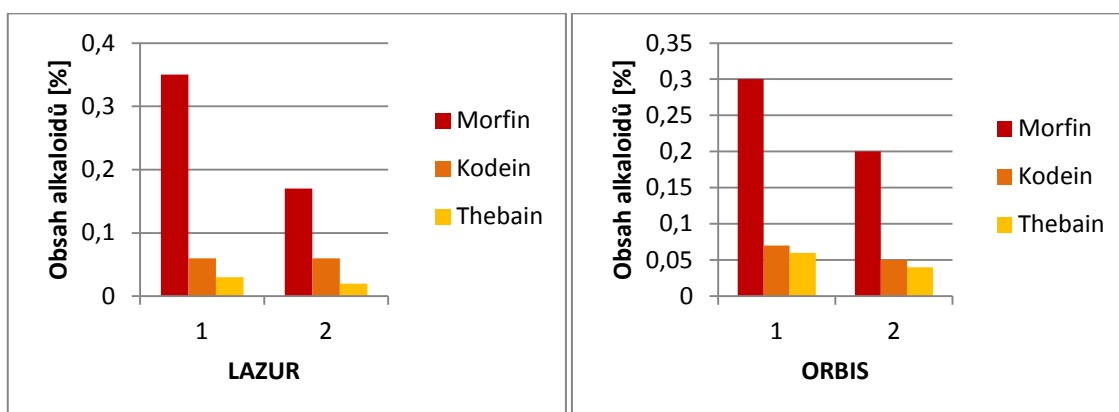
Při pohledu na biosyntetickou dráhu morfinu se naskýtá vysvětlení, že se biosyntéza morfinu v našem pokusu zastavila u metabolitu thebainu (příp. kodeinu).

U sledovaných makovic (odrůda Lazur a Orbis) si lze povšimnout závislosti mezi obsahem morfinu a obsahem kodeinu s thebainem. V případě, kdy byla na jednom z neošetřených polí naměřena nápadně vyšší koncentrace morfinu v porovnání s ostatními políčky, koncentrace kodeinu a thebainu byla nízká. Na poli s relativně nejnižší koncentrací morfinu byl zase obsah kodeinu a thebainu nápadně vysoký (grafy 13, 14). U ošetřených polí tuto závislost sledovat nemůžeme. Pokud byla naměřena znatelně nižší hodnota morfinu, na obsah kodeinu a thebainu to nemělo vliv nebo byly tyto hodnoty také nižší (grafy 15, 16).

Grafy 13, 14: Obsah alkaloidů v tobolkách z neošetřené parcely s nejvyšším obsahem morfinu (1) a z neošetřené parcely s nejnižším obsahem morfinu (2) u daných odrůd



Grafy 15, 16: Obsah alkaloidů v tobolkách z ošetřené parcely s nejvyšším obsahem morfinu (1) a z ošetřené parcely s nejnižším obsahem morfinu (2) u daných odrůd



Dittbrenner et al., 2009 ve své práci uvádějí, že akumulace kodeinu může být vyvolána sníženou enzymatickou aktivitou v kroku přeměny kodeinu na morfin, čímž dojde k částečné blokádě biosyntézy morfinu. Enzymatická aktivita může být podle nich ovlivněna podmínkami prostředí. Poškození tobolek vlivem povětrnostních podmínek během zrání může vyvolat přesun kodeinu ze stonku do tobolek.

Metody šlechtění zahrnují výběr, křížení, mutace a v posledním desetiletí se potenciálním novým nástrojem v ovlivňování metabolické produktivity stává genetické inženýrství. Byla provedena řada studií zaměřených na objasnění genetického pozadí alkaloidů máku. Klíčové enzymy katalyzující biosyntetické pochody byly izolovány a odpovídající geny zkopírovány. Studie s obměnami genů však ukázaly, že regulace biosyntetické dráhy je komplexní proces, za který jsou odpovědné zatím neznámé

faktory (Németh-Zámbori et al., 2011). Németh-Zámbori et al., 2011 při pokusech s křížením odrůd zjistili, že zkřížením vysokoobsažných odrůd dochází ke zvýšení obsahu morfinu a thebainu a celkového množství alkaloidů u kříženců. Při křížení byl pozorován vzrůstající počet potomků hromadících alkaloid thebain, a to zejména tam, kde thebain nebyl charakteristický pro oba rodiče. Podobnou tendenci vykázal i kodein.

Hodí se srovnání obsahů alkaloidů v makovicích daných odrůd mezi sebou (tab. 24) a s charakterem odrůdy. Hodnoty z makovic odrůd Orfeus a OP-P-13 jsou výsledkem diplomové práce Lindy Röslerové, na jejichž základě mohly být také dopočítány koncentrace alkaloidů v makovině těchto odrůd, které jsou znázorněny v předešlých grafech (grafy 15, 16).

Tab. 24: Obsah alkaloidů v makovicích na ošetřených (O) i neošetřených (N) parcelách [%]

Odrůda	Morfin		Kodein		Thebain		Narkotin	
	O	N	O	N	O	N	O	N
Lazur	⟨0,17; 0,35⟩	⟨0,19; 0,26⟩	⟨0,03; 0,06⟩	⟨0,06; 0,21⟩	⟨0,01; 0,03⟩	⟨0,01; 0,14⟩	⟨0,02; 0,04⟩	⟨0,04; 0,05⟩
Orbis	⟨0,20; 0,29⟩	⟨0,22; 0,36⟩	⟨0,05; 0,07⟩	⟨0,05; 0,14⟩	⟨0,04; 0,06⟩	⟨0,06; 0,12⟩	0	⟨0; 0,01⟩
Orfeus	⟨0,32; 0,34⟩	⟨0,28; 0,34⟩	⟨0,06; 0,08⟩	⟨0,05; 0,06⟩	⟨0,06; 0,11⟩	⟨0,04; 0,15⟩	0	0
OP-P-13	⟨0,20; 0,30⟩	⟨0,13; 0,32⟩	⟨0,01; 0,06⟩	⟨0,02; 0,08⟩	⟨0; 0,02⟩	⟨0,01; 0,03⟩	⟨0,01; 0,02⟩	⟨0,01; 0,02⟩

Výsledky z jednotlivých parcel jsou vysoce variabilní, ovšem morfin byl ve všech případech dominantním alkaloidem. Vezmeme-li v úvahu pouze nejvyšší dosaženou koncentraci morfinu v rámci jednotlivých parcel, patří odrůdy Lazur a Orbis k těm více obsažným, což odpovídá jejich charakteristice dle Vrbovského, 2012 z VÚOO. Rozdíly mezi odrůdami ale nejsou nijak významné a výsledky jsou značně nekonzistentní.

Potvrdilo se, že obsah morfinu ve stoncích je nižší, než v makovicích (Zukalová et al., 2007). Pouze u jediné z 24 parcel tomu tak nebylo, což mohl být náhodný jev. Vyšší koncentrace kodeinu a thebainu však byla častokrát naměřena ve stoncích odrůd

Lazur a OP-P-13. U odrůdy Orbis se tento jev týkal pouze alkaloidu kodeinu. Odrůda Orfeus dosahovala vždy vyšších koncentrací alkaloidů v makovicích než ve stoncích.

Kvalita a kvantita sekundárních metabolitů u rostlin pěstovaných na poli kolísá a různorodě závisí na podmínkách životního prostředí v období sklizně. Zamoření nemocemi a aplikace pesticidů přídatně snižují kvalitu rostlinného materiálu (Chatterjee et al., 2010).

Mák je na agrotechniku náročná plodina (Bubeník, 2011). Jeho výnos je ovlivňován řadou faktorů, které mají v ekologickém režimu ještě větší význam.

Porovnání alkaloidní produkce máku se všemi vnějšími faktory, které do tohoto procesu zasahují, najednou, je komplikované až skoro nemožné. Jednotlivé zde zdůrazněné skutečnosti je nutné uvažovat jako celek, nikoliv v jednoduchém příčinném vztahu.

Jednu z proměnných v této složité rovnici představuje pěstební ročník. Zima bez pokrývky, nadprůměrné teploty a nízké úhrny srážek na jaře vytvořily podmínky vhodné pro nálet krytonosce kořenového do porostu a jeho rozmnožení. Poškození rostlin tímto škůdcem mělo nepříznivý efekt na vzcházení rostlin a následně byla pravděpodobně usnadněna nákaza helmintosporiózou (Hejný et al., 2007).

Z hlediska míry napadení lze konstatovat, že biologická ochrana byla přínosem pouze u odrůd odolnějších proti houbovým chorobám už v genetickém základu (Orbis a Orfeus), přičemž lepších výsledků bylo dosaženo v ochraně proti plísni makové než proti helmintosporióze. V ostatních případech byl vliv na napadení rostlin spíše negativní, což mohlo v důsledku ovlivnit biosyntézu alkaloidů. Podobný byl i závěr z maloparcelkových pokusů na Výzkumné stanici Červený Újezd z let 2008 – 2010, kde podle Doležalové et al. (2011) vykazovala neošetřená kontrola vždy přibližně o 10 % vyšší množství morfinu v makovině, než fungicidně ošetřené varianty. Použité fungicidy byly ale chemické povahy.

Nerovnoměrný obsah alkaloidů v rámci jedné odrůdy a jedné varianty (ošetřené/neošetřené) mohl být zapříčiněn také polohou parcely. Podle Vašáka et al., 2010 mají sluneční paprsky pozitivní vliv na tvorbu alkaloidů v rostlinách a proto mohly být parcely na stinném místě znevýhodněny.

V pokusu Bernátha et al. (1988) s mákem setým, pěstovaným za řízených klimatických podmínek, bylo dosaženo vyššího celkového množství alkaloidů

v tobolkách při tropických podmínkách charakterizovaných vyššími teplotami a větší intenzitou osvětlení.

Koncentrace morfinu se také výrazně mění během dne. Protože je ale morfin ireverzibilním konečným produktem v řadě thebain, kodein a morfin, předpokládá se, že je periodicky měněn na ne-alkaloidní molekulu (Fairbairn et al., 1964).

Svou roli mohla sehrát i možná rozdílná saturace půdy živinami. Půda byla důležitým faktorem pro celkový vývoj rostlin. V souladu s literárními zdroji (Vašák et al., 2010) bylo potvrzeno, že rostlinám máku se nedaří na těžkých půdách. Ty mají tendenci se po deštích slévat ve škraloup, což se po přívalových deštích stalo i na našem pozemku (obr. 31).

Obr. 30: Nahrubo připravený pozemek



Obr. 31: Půda slitá po dešti



Pokus také ukázal, že i přes silný vliv zevních podmínek, největší význam sehrála odrůda a její genetický základ nejen alkaloidní produkce, ale také rezistence proti houbovým chorobám. Nejstabilnějších výnosů tak dosáhla nejodolnější z odrůd, Orfeus.

Ekologické podmínky pěstování se pro mák neukázaly jako optimální. Biologickou ochranu nelze doporučit zejména náchylným odrůdám (Lazur a OP-P-13), u kterých vliv napadení houbovými chorobami může významně modifikovat produkci alkaloidů.

Tato studie ukázala na problémy, které se mohou vyskytnout při ekologickém pěstování máku. Může se tak stát vodítkem při dalších studiích tohoto typu.

7 ZÁVĚR

Cílem práce bylo v přirozených půdních podmínkách Zahrady léčivých rostlin, při FaF UK ověřit vliv biologické ochrany rostlin na produkci sekundárních metabolitů *Papaver somniferum* L. V pěstebním roce (2012) se vyskytlo hned několik rizikových faktorů naráz. Byly to pozdní výsev, těžká půda, zaplevelení pozemku a nepřízeň počasí, které se podepsaly na celkovém stavu porostu.

Morfin

Nejvyšší průměrný obsah morfinu v makovině byl zjištěn u odrůdy Orfeus, ošetřené varianty. Naopak nejnižší průměrná hodnota byla naměřena u odrůdy Lazur, neošetřené varianty.

Kodein

Kodeinu bylo nejvíce u neošetřené varianty odrůdy Lazur a nejméně u ošetřené varianty odrůdy OP-P-13.

Papaverin

Papaverin byl v měřitelném množství zaznamenán pouze na jedné z neošetřených parcel odrůdy OP-P-13.

Thebain

Nejvyšší koncentraci thebainu v makovině měla odrůda Orfeus, ošetřená varianta. Nejnižší potom ošetřená varianta odrůdy OP-P-13.

Narkotin

Nejvíce narkotinu v makovině obsahovala odrůda Lazur, neošetřená, a žádný narkotin nebyl zjištěn u obou variant odrůdy Orfeus.

Výsledky lze shrnout do následujících závěrů:

- Biologická ochrana neovlivňuje biosyntézu alkaloidů přímo, ale nepřímo vlivem na míru napadení rostlin houbovými chorobami.
- Efektivní se biologická ochrana ukázala proti plísni makové.
- Odolnějším odrůdám (Orbis a Orfeus) biologická ochrana pomohla vzdorovat i nákaze helmintosporiózou. U méně odolných odrůd (Lazur a OP-P-13) byl efekt spíše opačný. Z toho důvodu nelze biologickou ochranu k pěstování náchylných odrůd zcela doporučit.

8 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- Aggrawal, A., Narcotic Drugs, New Delhi, 1995, 161 s.
- Artyszak, A., Kucińska, K., Produkce máku v Polsku za roky 1991 – 2004, *Sborník konference s mezinárodní účastí: Řepka, mák, slunečnice a hořčice*, 2005-02-22, Česká zemědělská univerzita, Praha, 2005, s. 128-130.
- Balažová, A., Pšenák, M., Tvorba morfinanov: Enzymový a molekulárno-biologický aspekt, *Chem. Listy*, 92, 1998, s. 1006-1015.
- Baranyk, P., Olejniný a jejich sklizeň, *Farmář*, 2 (4), 1996, s. 29-30.
- Bechyně, M., Novák, J., Biologie máku a systém jeho produkce, Vysoká škola zemědělská, Praha, 1987, 94 s.
- Bechyně, M., Kadlec, T., Vašák, J. et al., Mák, Agrospoj, Praha, 2001, 127 s.
- Bennett, R. N., Wallsgrove, R. M., Tansley Review No. 72, Secondary metabolites in plant defence mechanisms, *New Phytol.*, 172, 1994, s. 617-633.
- Bentley, K. W., The Chemistry of the Morphine Alkaloids, Clarendon Press, Oxford, 1954, 452 s.
- Bernáth, J., Dánosa, B., Veres, T., Szantó, J., Tétényi, P., Variation in alkaloid production in poppy ecotypes: Responses to different environments, *Biochem. Syst. Ecol.*, 16 (2), 1988-01-14, s. 171–178.
- Biopreparáty, spol. s r. o., dostupné z:
http://www.biopreparaty.eu/images/stories/mak_POLYVERSUM.jpg, [cit. 2013-04-19].
- Bubeník, R., Ověřené možnosti eliminace stresových vlivů při pěstování máku, *Sborník odborných seminářů „Mák v roce 2011“*, Praha, 2011, s. 39-41.
- Cihlář, P., Vlažný, P., Vašák, J., Vybrané výsledky z pokusů s mákem v Červeném Újezdě v roce 2011, *Sborník odborných seminářů „Mák v roce 2012“*, Praha, 2012, s. 79-83.
- Český lékopis 2009, Ministerstvo zdravotnictví ČR, Grada Publishing, Praha, 2009, 3968 s.
- Český lékopis 2009 – Doplněk 2012, Ministerstvo zdravotnictví ČR, Grada Publishing, Praha, 2012, 1112s.
- ČHMÚa (Český hydrometeorologický úřad), Územní teploty (Rok 2012), dostupné z:

http://portal.chmi.cz/portal/dt?action=content&provider=JSPTabContainer&menu=JSPTabContainer/P4_Historicka_data/P4_1_Pocasi/P4_1_4_Uzemni_teplo_ty&nc=1&portal_lang=cs#PP_Uzemni_teplo_ty, [cit. 2013-04-18].

ČHMÚb (Český hydrometeorologický úřad), Územní srážky (Rok 2012), dostupné z:

http://portal.chmi.cz/portal/dt?action=content&provider=JSPTabContainer&menu=JSPTabContainer/P4_Historicka_data/P4_1_Pocasi/P4_1_5_Uzemni_srazky&nc=1&portal_lang=cs#PP_Uzemni_srazky, [cit. 2013-04-18].

ČSÚa (Český statistický úřad), Veřejná databáze Sklizeň zemědělských plodin (Rok 2010), dostupné z:

http://vdb.czso.cz/vdbvo/tabdetail.jsp?kapitola_id=11&potvrd=Zobrazit+tabulku&go_zobraz=1&cislotab=ZEM0030UU&vo=tabulka&cas_1_76=2010&voa=tabulka&str=tabdetail.jsp, [cit. 2013-04-16].

ČSÚb (Český statistický úřad), Veřejná databáze Sklizeň zemědělských plodin (Rok 2011), dostupné z:

http://vdb.czso.cz/vdbvo/tabdetail.jsp?kapitola_id=11&potvrd=Zobrazit+tabulku&go_zobraz=1&cislotab=ZEM0030UU&vo=tabulka&cas_1_76=2011&voa=tabulka&str=tabdetail.jsp, [cit. 2013-04-16].

Dalton, D. R., Mascavage, L. M., Wilson, M., Alkaloids, *Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology*, 2, 2003, s. 71-113.

Dittbrenner, A., Mock, H.-P., Börner, A., Lohwasser, U., Variability of alkaloid content in *Papaver somniferum* L., *J. Appl. Bot. Food Qual.*, 82, 2009, s. 103-107.

Doležal, M., Opletalová, V., Miletín, M., Zimčík, P., Kučerová, M., Farmaceutická chemie léčiv působících na autonomní nervový systém, Karolinum, Praha, 2009, 134 s.

Doležalová, J., Zukalová, H., Cihlář, P., Vašák, J., Vliv vybraných agrotechnických opatření na obsah morfinu u máku setého (*Papaver somniferum* L.), *Sborník odborných seminářů „Mák v roce 2011“*, Praha, 2011, s. 94-98.

Doubková, J., Bezplevelný a zdravý porost máku s produkty společnosti Syngenta, *Sborník odborných seminářů „Mák v roce 2011“*, Praha, 2011, s. 72-73.

Dvořák, J., 2011, dostupné z:

<http://www.biolib.cz/cz/taxonimage/id175927/?taxonid=13692>).

- Dvořáková, E., Stránská, I., Novák, J., Alkaloidní produkce máku (*Papaver L.*), *Sborník odborných seminářů „Mák v roce 2008“*, Praha, 2008, s. 89-92.
- Fábry, A., Schreier, J., Šinský, T., Škaloud, V., Štaud, J. et al., Jarní olejniny, Ministerstvo zemědělství a výživy ČR, České Budějovice, 1990, 241 s.
- Fábry, A. et al., Olejniny, Ministerstvo zemědělství ČR, Praha, 1992, 419 s.
- Facchini, P. J., Alkaloid Biosynthesis in Plants: Biochemistry, Cell Biology, Molecular Regulation, and Metabolic Engineering Applications, *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.*, 52, 2001, s. 29-66.
- Fairbairn, J. W., Wassel, G., The alkaloids of *Papaver somniferum* L. — I.: Evidence for a rapid turnover of the major alkaloids, *Phytochemistry*, 3 (2), 1964, s. 253-258.
- Farmář, Mák setý, *Farmář*, 14 (11) – příloha, 2008, s. 10-11.
- Friderichs, E., Christoph, T., Buschmann, H., Analgesics, Centrally Acting, *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, 3, Weinheim, 2011, s. 339-386.
- Hagel, J. M., Facchini, P. J., Benzyloquinoline Alkaloid Metabolism: A Century of Discovery and a Brave New World, *Plant Cell Physiol.*, 54 (5), 2013, s. 647-672.
- Hájková, M., Kuchtová, P., Hajšlová, J. et al., Pěstitelské systémy u máku se zaměřením na kvalitu a bezpečnost ekologické a integrované produkce, Redakčně upravená zpráva za rok 2010, Česká zemědělská univerzita, Vysoká škola chemicko-technologická, OSEVA vývoj a výzkum s.r.o., Praha, 2011, 45 s.
- Hampl, F., Rádl, S., Paleček, J., Farmakochemie, Vysoká škola chemicko-technologická, Praha, 2007, 448 s.
- Hauptman, I., Kukal, Z., Pošmourný, K. (Eds.), Půda v České republice, Consult, Praha, 2009, 255 s.
- Havel, J., Hájková, M., Fytotoxicita sledu herbicidů a účinek na plevelné spektrum, *Sborník odborných seminářů „Mák v roce 2012“*, Praha, 2012, s. 50-53.
- Hejný, S., Slavík, B., Květena České socialistické republiky 1, Academia, Praha, 1988, 557 s.
- Hezký, P., Ostře sledovaná produkce máku, 2006-08-03, dostupné z: http://www.uroda.cz/@AGRO/informacni-servis/Ostre-sledovana-produkce-maku_s457x23881.html, [cit. 2013-03-16].
- Hospodářské noviny, Opia bude letos méně, Zmrzl mák, *Hospodářské noviny*, 52 (82), 2008-04-25, s. 1; 7.

- Hrabalová, A., Dittrichová, M., Koutná, K., Statistická šetření ekologického zemědělství provedená v roce 2010, ÚZEI (Ústav zemědělské ekonomiky a informací), Brno, 2011, 48 s.
- Hrabalová, A., Dittrichová, M., Koutná, K., Statistická šetření ekologického zemědělství – Základní statistické údaje (2011), ÚZEI (Ústav zemědělské ekonomiky a informací), Brno, 2012, 54 s.
- Hrdina, R., Opioidní analgetika – přednáška, FaF UK, dostupné z:
https://docs.faf.cuni.cz/KFLT/?path=farmakologie+ii%5cfarmakologie+ii+-+dokumenty%5csp+farmacie_p%c5%99edn%c3%a1%c5%a1ky+farmakologie+ii_texty, [uploaded 2012-06-01].
- Husáková, M., Léčivé, aromatické a kořeninové rostliny v ČR, 2009-06-24, dostupné z:
http://www.zahradaweb.cz/informace-z-oboru/zpravodajstvi/Lecive-aromaticke-a-koreninove-rostliny-v-CR_s520x45034.html, [cit. 2013-03-30].
- Chatterjee, A., Shukla, S., Mishra, P., Rastogi, A., Singh, S. P., Prospects of *in vitro* production of tebaine in opium poppy (*Papaver somniferum* L.), *Ind. Crops Prod.*, 32, 2010, s. 668-670.
- Jahodář, L., Farmakobotanika, semenné rostliny, Karolinum, Praha, 2006, 258 s.
- Jaroš, Z., Léčivé látky z rostlin, Dona, České Budějovice, 1992, 79 s.
- Kabátová, N., Šulová, R., Stanovení obsahu morfinu v makovině metodou HPLC, *Bulletin Národní referenční laboratoře*, XVII, 2013/1, ÚKZÚZ (Ústřední kontrolní a zkušební úřad zemědělský), Brno, 2013, s. 26-54.
- Kazda J., Prokinová E., Ryšánek P., Škůdci a choroby rostlin, domácí rostlinolékař, Euromedia Group, Praha, 2007, 288 s.
- Kazda, J., Skuhrovec, J., Krytonosec makovicový (*Neoglocianus maculaalba* (Herbst, 1795)), *Sborník odborných seminářů „Mák v roce 2011“*, Praha, 2011, s. 82-83.
- KEZ (Kontrola ekologického zemědělství), Přípravky na ochranu rostlin registrované v ČR, které je možné použít v EZ, stav k 2012-01-10, 22 s., dostupné z:
http://www.kez.cz/sites/default/files/dokumenty/POR_10012012.pdf, [cit. 2013-04-18].
- Klimeš, J., Sochor, J., Mokřý, M., Kastner, P., Pilařová, P., Kontrolně-analytické hodnocení léčiv lékopisnými metodami, Nucleus HK, Hradec Králové, 2011, 268 s.

Kopáč, J., 2009, dostupné z:

http://prostejovsky.denik.cz/zpravy_region/obrazem-mak-na-hane-nici-sucho-a-propad-cen.html, [cit. 2013-03-30].

Korbelář, J., Endris, Z., Krejča, J., Naše rostliny v lékařství, Avicenum, Praha, 1973, 496 s.

Kosek, Z., Sdružení Český mák informuje, *BASF Agrotip* – příloha, 5, 2006, s. 1.

Kubát, K. et al., Botanika, Scientia, Praha, 2003, 231 s.

Kuchtová, P., Pšenička, P., Pokus s pěstováním máku na ekologické farmě v Budyni nad Ohří, *Sborník odborných seminářů „Mák v roce 2007“*, Praha, 2007, s. 52-55.

Kuchtová, P., Kazda, J., Cihlář, P., Plachká, E., Hájková, M. et al., Vliv vybraných přípravků a jejich kombinací na výnos máku (*Papaver somniferum* L.), *Sborník z konference „Prosperující olejnin“*, 2009-12-10/11, Česká zemědělská univerzita, OSEVA vývoj a výzkum s.r.o., Praha, 2009, s. 82-87.

Kuchtová, P., Hájková, M., Dvořák, P., Plachká, E., Kazda, J., Jak dělat ekologický mák za dvojnásobnou cenu, *Sborník odborných seminářů „Mák v roce 2012“*, Praha, 2012, s. 29-37.

Kulhánek, I., Ochrana proti houbovým chorobám máku s fungicidy BASF již 10 let, *Sborník odborných seminářů „Mák v roce 2011“*, Praha, 2011, s. 68-69.

Kumhála, F., Vlk, R., Přímá sklizeň máku setého sklízecí mlátičkou, *Farmář – Speciál Plus*, 8 (5), 2002, s. 46-49.

Lüllmann, H., Mohr, K., Wehling, M., Farmakologie a toxikologie, Praha, 2004, 728 s.

Mascavage, L. M., Jasmin, S., Sonnet, P. E., Wilson, M., Dalton, D. R., Alkaloids, *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*, 2, Weinheim, 2011, s. 326-428.

Mika, K., Fytoterapie, Osveta, Martin, 1988, 425 s.

Mikro-verze AISLP – ČR, 2013.3 pro MS Windows, stav k 2013-07-01.

Motýl, I., Když makovičky zrály... Česko je maková velmoc, zemědělci vydělají přes miliardu, *Týden*, 14 (35), 2007-08-27, s. 26-27.

Moudrý, J., Moudrý, J., Konvalina, P., Kalinová, J., Základní principy ekologického zemědělství, Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, České Budějovice, 2007, 41 s.

Muška, F., Rožnovský, J., Jakl, A., Škodlivý výskyt krytonosce makovicového (*Neoglocianus maculaalba* = *Ceutorrhynchus macula-alba*) v máku setém na

- uzemí České republiky v letech 1961-2009, *Sborník odborných seminářů „Mák v roce 2012“*, Praha, 2012, s. 68-70.
- MZe (Ministerstvo zemědělství ČR), Situační a výhledová zpráva, Olejníny, Ministerstvo zemědělství, Praha, 2009, 41 s.
- MZe (Ministerstvo zemědělství ČR), Základní statistické údaje ekologického zemědělství k 2012-12-31, 2013-02-11, dostupné z:
<http://eagri.cz/public/web/mze/zemedelstvi/ekologicke-zemedelstvi/statistika-a-pruzkumy/>, [cit. 2013-04-16].
- Németh-Zámboři, É., Jászberényi, C., Rajhárt, P., Bernáth, J., Evaluation of alkaloid profiles in hybrid generations of different poppy (*Papaver somniferum* L.) genotypes, *Ind. Crops Prod.*, 33, 2011, s. 690-696.
- Novák, J., The biology and alkaloid production of *Papaver bracteatum* LINDL. (*Papaveraceae*), *Agriculture tropica et subtropica*, Vysoká škola zemědělská, Praha, 18, 1985, s. 168-178.
- Novák, J., Preininger, V., Taxonomické a fytochemické hodnocení rodu *Papaver* (*Papaveraceae*), Vysoká škola zemědělská, Praha, 1981, 157 s.
- Novák, J., Preininger, V., Chemotaxonomic review of the genus *Papaver*, *Preslia*, 59, Praha, 1987, s. 1-13.
- Opletal, L., Chlebek, J., Cahlíková, L., Macáková, K., Isochinolinové alkaloidy: 200 let zkušeností, *Sborník 38. konference „Syntéza a analýza léčiv“*, 2009-09-14/16, Hradec Králové, 2009, s. 37.
- Paul, L., Schiff, J., Opium and Its Alkaloids, *American Journal of Pharmaceutical Education*, 66, Pittsburgh, 2002, s. 186-194.
- Plachká, E., Návod pro hodnocení biologické účinnosti fungicidů, OSEVA PRO s.r.o., odštěpný závod Výzkumný ústav olejnin Opava, 2005, 4 s.
- Poláková, L., Perspektivy pro mák v letošním roce, 2007-03-16, dostupné z:
http://www.agroweb.cz/roslinna-vyroba/Perspektivy-pro-mak-v-letosnim-roce_s44x27346.html, [cit. 2013-03-28].
- Polyversum, Otevíráme Vám dveře v ochraně rostlin pro 21. století – tištěné materiály, Biopreparáty, spol. s r. o.

- Prajapati, S., Bajpai, S., Singh, D., Luthra, R., Gupta, M. M. et al., Alkaloid profiles of the Indian land races of the opium poppy *Papaver somniferum* L., *Genet. Resour. Crop Ev.*, 49 (2), 2002, s. 183-188.
- Procházka, S., Macháčková, I., Krekule, J., Šebánek, J. et al., Fyziologie rostlin, Academia, Praha, 1998, 484 s.
- Prokeš, J. et al., Základy toxikologie, Obecná toxikologie a ekotoxikologie, Galén Karolinum, Praha, 2005, 248 s.
- Pšenička, P., Vašák, J., Kosek, Z., Vlk, R., Současný sortiment odrůd a osivo, 2009-02-20, dostupné z: http://www.agroweb.cz/Soucasny-sortiment-odruda-osivo_s336x32820.html, [cit. 2013-03-30].
- Rotrekl, J., Ochrana máku (*Papaver somniferum*) před hmyzími škůdci, *Zborník zo 4. odborného seminára „Mák siaty pre Slovensko“*, 2012-11-13, Piešťany, 2012, s. 11-15.
- Roubal, T., Stručné zhodnocení a možnosti zdokonalení současné pěstební technologie máku, *Sborník odborných seminářů „Mák v roce 2011“*, Praha, 2011, s. 16-19.
- Roubal, T., Konkurenceschopnost českého máku v podmínkách volného trhu, *Sborník odborných seminářů „Mák v roce 2012“*, Praha, 2012, s. 17-18.
- Sener, B., Orhan, I., Discovery of drug candidates from some Turkish plants and conservation of biodiversity, *Pure Appl. Chem.*, 77 (1), 2005, s. 53-64.
- Sikora, K., Nově registrovaný fungicid pro mák setý, *Úroda*, 58 (3), 2010, s. 55.
- Sikora, K., Mák setý, Jak na plevel, škůdce a choroby?, *Úroda*, 60 (3), 2012, s. 40-41.
- Staněk, J., Alkaloidy, Československá akademie věd, Praha, 1957, 653 s.
- Stránská, I., Skalický, M., Novák, J., Matyášová, E., Hejnák, V., Analysis of selected poppy (*Papaver somniferum* L.) cultivars: Pharmaceutically important alkaloids, *Ind. Crops Prod.*, 41, 2013, s. 120-126.
- Tatarčíková, L., Mák setý – jedna z nejrentabilnějších plodin současnosti, *Farmář*, 14 (4), 2008, s. 32-33.
- Tétényi, P., Opium Poppy (*Papaver somniferum*): Botany and Horticulture, *Horticultural Reviews*, 19, Budapest, 1997, s. 373-407.
- ÚKZÚZ (Ústřední kontrolní a zkušební úřad zemědělský), Seznam odrůd zapsaných ve Státní odrůdové knize ke dni 15. června 2012, *Věstník Ústředního kontrolního*

- a zkušebního ústavu zemědělského, XI, řada Národní odrůdový úřad, S, Brno, 2012, 76 s.
- ÚKZÚZ (Ústřední kontrolní a zkušební úřad zemědělský), Národní odrůdový úřad, Brno, Databáze odrůd – dostupné z: <http://nou.ukzuz.cz/ido/>, [cit. 2013-03-30].
- Urban, J., Šarapatka, B. et al., Ekologické zemědělství, učebnice pro školy i praxi, I. díl, Základy ekologického zemědělství, agroenvironmentální aspekty a pěstování rostlin, Ministerstvo životního prostředí, Praha, 2003, 280 s.
- Valíček, P. et al., Užitkové rostliny tropů a subtropů, Academia, Praha, 2002, 486 s.
- Vašák, J. (Ed.) et al., Mák, Powerprint, Praha, 2010, 336 s.
- Vašák, J., Kosek, Z., Mák ve struktuře rostlinné výroby, *Farmář*, 7 (2), 2001, s. 26-27.
- Viková, M., Nová registrace fungicidního přípravku Acanto v máku, *Sborník odborných seminářů „Mák v roce 2011“*, Praha, 2011, s. 70-71.
- Vlažný, P., Plíseň maková – *Peronospora arborescens*, *Sborník odborných seminářů „Mák v roce 2010“*, Praha, 2010, s. 86-87.
- Vlažný, P., Cihlář, P., Vašák, J., Vliv termínu aplikace insekticidu na poškození kořenů jarního máku (*Papaver somniferum* L.) larvami krytonosce kořenového (*Stenocarus ruficornis*), *Sborník z konference „Prosperující olejniny“*, 2010-12-9/10, Česká zemědělská univerzita, Praha, 2010, s. 86-88.
- Vlažný, P., Cihlář, P., Dvořák, L., Šimka, J., Vašák, J., Ověření úspěšných fungicidních variant proti plísni makové na maloparcelních a poloprovozních pokusech v roce 2011, *Sborník odborných seminářů „Mák v roce 2012“*, Praha, 2012a, s. 54-57.
- Vlažný, P., Cihlář, P., Šimka, J., Bečka, D., Vašák, J., Signalizace a následná foliární aplikace insekticidu jako nástroj k snížení škodlivosti krytonosce kořenového v porostech máku, *Sborník odborných seminářů „Mák v roce 2012“*, Praha, 2012b, s. 62-66.
- Vlk, R., Nový stroj pro sklizeň makoviny, *Farmář*, 12 (4), 2006, s. 67-68.
- Vlk, R., Kosek, Z., Šimek, P., Výsledky odrůdových pokusů máku ze Společného katalogu EU, *Sborník odborných seminářů „Mák v roce 2010“*, Praha, 2010, s. 20-23.
- Vlk, R., Kosek, Z., Šimek, P., Výnosy máku, makoviny a obsah morfinu, *Sborník odborných seminářů „Mák v roce 2011“*, Praha, 2011, s. 20-22.

- Vrbovský, V., Odrůdy máku, Semináře pro pěstitele máku a slunečnice, rentabilní technologie pěstování při dodržení zásad Cross-compliance, *Sborník vzdělávacích materiálů pro účastníky seminářů v rámci Programu rozvoje venkova České republiky*, Praha, 2009, s. 24-33.
- Vrbovský, V., Majdanová, J., Orfeus – nová modrotemenná odrůda na našem trhu, *Sborník odborných seminářů „Mák v roce 2010“*, Praha, 2010, s. 24 – 26.
- Vrbovský, V., Rychlá, A., Endlová, L., Výsledky analýz obsahu alkaloidů v makovině v roce 2010, *Sborník odborných seminářů „Mák v roce 2011“*, Praha, 2011, s. 23-28.
- Vrbovský, V., Charakteristika odrůd – písemné sdělení, OSEVA PRO s.r.o., odštěpný závod Výzkumný ústav olejin Opava, 2012, 1 s.
- Vrbovský, V., Výsledkový list alkaloidy HPLC – elektronická podoba, OSEVA PRO s.r.o., odštěpný závod Výzkumný ústav olejin Opava, 2013, 1 s.
- Vyhláška č. 151/2005 Sb., kterou se stanoví vzory formulářů pro hlášení osob pěstujících mák setý nebo konopí a způsob vyplňování a nakládání s uvedenými formuláři, Sbírka zákonů ČR, částka 57, (2005).
- Zákon č. 167/1998 Sb., o návykových látkách a o změně některých dalších zákonů, Sbírka zákonů ČR, částka 57, (1998).
- Zákon č. 242/2000 Sb., o ekologickém zemědělství a o změně zákona č. 368/1992 Sb., o správních poplatcích, ve znění pozdějších předpisů, Sbírka zákonů ČR, částka 73, (2000).
- Zehnálek, P., Holubář, J., Přehledy odrůd hořčice bílé, máku setého, lnu olejného a kmínu kořeného 2013, *Odrůdy 2013*, ÚKZUZ, Národní odrůdový úřad, Brno, 2013, s. 93-102.
- Ziegler, J., Diaz-Chávez, M. L., Kramell, R., Ammer, C., Kutchan, T. M., Comparative macroarray analysis of morphine containing *Papaver somniferum* and eight morphin free *Papaver* species identifies an O-methyltransferase involved in benzylisoquinolin biosynthesis, *Planta*, 222 (3), 2005, s. 458-471.
- Zukalová, H., Vašák, J., Bečka, D., Cihlář, P., Jak získat kvalitní makovinu, *Úroda*, 55 (4), 2007, s. 34-35.

Webové odkazy

<http://eagri.cz/public/web/mze/zemedelstvi/ekologicke-zemedelstvi/>, [cit. 2013-02-23].

<http://eagri.cz/public/web/mze/zemedelstvi/ekologicke-zemedelstvi/kontrola/>, [cit. 2013-02-23].

<http://etext.czu.cz/php/skripta/kapitola.php?titul key=76&idkapitola=24>, [cit. 2013-03-30].

http://sdruzeni.ceskymak.cz/pripravky_na_ochranu_rostlin, [cit. 2013-08-05].

http://www.agrocr.cz/co-je-to-cesky-modry-mak_.php, [cit. 2013-02-22].

http://www.agrokrom.cz/texty/metodiky/radce_hospodare/radce_agrobiologicka_kontrola_v_rostlinne_vyrobe.pdf, [cit. 2013-03-30].

<http://www.agromanual.cz/cz/clanky/ochrana-rostlin-a-pestovani/aktualni-prehled-ochrany-polnich-plodin-unor-a-brezen-2013.html>, [cit. 2013-02-27].

<http://www.agromanual.cz/cz/pripravky>, [cit. 2013-08-05].

http://www.biopreparaty.eu/images/stories/mak_POLYVERSUM.jpg, [cit. 2013-03-27].

<http://www.biopreparaty.eu/registrace/ceska-republika>, [cit. 2013-03-27].

<http://www.biopreparaty.eu/ucinna-latka/o-produktu>, [cit. 2013-03-27].

<http://www.biopreparaty.eu/zpusoby-aplikace/zpusoby-aplikace-pripravku-polyversum>, [cit. 2013-03-27].

<http://www.kez.cz/pripravky-na-ochranu-rostlin>, [cit. 2013-03-27].

http://www.sdruzeni.ceskymak.cz/?q=o_sdruzeni, [cit. 2013-03-04].

<http://www.syngenta.com/country/cz/cz/reseni-syngenta/skudci/Pages/krytonosec-korenovy.aspx>, [cit. 2013-02-24].

ABSTRAKT

Cincibuchová, V.: Vliv agrotechnik a biologické ochrany rostlin na produkci sekundárních metabolitů *Papaver somniferum* L. Diplomová práce. Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, Katedra farmaceutické botaniky a ekologie, Hradec Králové, 2013, 97 s.

Na čtyřech odrůdách máku setého, *Papaver somniferum* L., byl zkoumán vliv agrotechnik a biologické ochrany rostlin na produkci hlavních sekundárních metabolitů, alkaloidů morfinu, kodeinu, papaverinu, thebainu a narkotinu. V pokusu bylo použito osivo odrůd Lazur, Orbis, Orfeus a OP-P-13 a biologickou ochranou se stal účinný mikroorganismus *Pythium oligandrum* fungicidního přípravku Polyversum. Každá odrůda byla pěstována ve třech opakováních s použitím biofungicidu a ve třech opakováních bez biologické ochrany. Alkaloidy byly z máku izolovány extrakcí a následně analyzovány pomocí vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC). Svou roli v biosyntéze alkaloidů sehrála řada vnějších faktorů, jako např. sucho a nadprůměrné teploty během vegetačního období máku. Biologická ochrana neovlivňuje biosyntézu alkaloidů přímo, ale nepřímo vlivem na míru napadení rostlin houbovými chorobami. Efektivní se biologická ochrana ukázala proti plísni makové (*Peronospora arborescens*). Odolnějším odrůdám (Orbis a Orfeus) biologická ochrana pomohla vzdorovat i nákaze helmintosporiózou (*Pleospora calvescens*). U méně odolných odrůd (Lazur a OP-P-13) byl efekt spíše opačný.

Klíčová slova: *Papaver somniferum* L., alkaloidy, biologická ochrana, *Pythium oligandrum*.

ABSTRACT

Cincibuchová, V.: Influence of agronomical practices and plant biological protection on production of secondary metabolites of *Papaver somniferum* L. Diploma thesis. Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, Department of Pharmaceutical Botany and Ecology, Hradec Králové, 2013, 97 pp.

The influence of agronomical practices as well as the use of biological plant protection on the production of major secondary metabolites, alkaloids morphine, codeine, papaverine, thebaine and narcotine was studied in four different varieties of the opium poppy, *Papaver somniferum* L. In the experiment, the seeds of the Lazur, Orbis, Orfeus and OP-P-13 varieties were used, and *Pythium oligandrum*, the effective microorganism of the fungicide preparation Polyversum, was applied as a biological protection. Each variety was grown in three repetitions using the application of the biofungicide and in three separate repetitions without the use of the biofungicide. Alkaloids were isolated from the poppy through the process of extraction and then analyzed using high performance liquid chromatography (HPLC). The biosynthesis of alkaloids was affected by many external factors, for example, drought and above average temperatures during the vegetation period of the poppy. The biological protection did not influence the biosynthesis of alkaloids directly, however it did have an indirect influence on the biosynthesis of alkaloids by altering the rate of fungal disease infection in the plants. The biological protection proved effective against *Peronospora arborescens*. In the more immune varieties (Orbis and Orfeus) the biological protection was also helpful against *Pleospora calvescens*. However, the biological protection had a rather negative affect on the more susceptible varieties (Lazur and OP-P-13).

Keywords: *Papaver somniferum* L., alkaloids, biological protection, *Pythium oligandrum*.